



Universidade de Aveiro Departamento de Biologia
2017

Liege Bernardino da Silva Peptídeos Antimicrobianos



Universidade de Aveiro Departamento de Biologia
2017

Liege Bernardino da Silva Peptídeos Antimicrobianos

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia, realizada sob a orientação científica do Doutor Mário Jorge Verde Pereira, Professor Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e da Doutora Maria Ângela Sousa Dias Alves Cunha, Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

DECLARAÇÃO

Declaro que este relatório é integralmente da minha autoria, estando devidamente referenciadas as fontes e obras consultadas, bem como identificadas de modo claro as citações dessas obras. Não contém, por isso, qualquer tipo de plágio quer de textos publicados, qualquer que seja o meio dessa publicação, incluindo meios eletrônicos, quer de trabalhos acadêmicos.

Dedico este trabalho a Deus pelo apoio nesta fase, por me dar tranquilidade.
Aos familiares e amigos que estiveram presente neste longo percurso.

O júri
Presidente

Prof. Doutora Isabel da Silva Henriques
Investigadora auxiliar da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Ulisses Manuel de Miranda Azeteiro
Professor associado com agregação da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Maria Ângela Sousa Dias Alves Cunha
Professora auxiliar da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela companhia neste caminho que me deu ânimo e coragem para continuar dia após dia, o que me permitiu concluir esta etapa. Acredito que seu apoio foi imprescindível para manter o equilíbrio e a tranquilidade diante das adversidades que não foram poucas neste percurso. Agradeço aos meus orientadores Doutor Mário Pereira e juntamente com a Doutora Maria Ângela Cunha, pelo trabalho realizado, pela paciência e boa disponibilidade em me atender, orientar e permitir o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada por adotarem uma metodologia de trabalho efetiva, apesar da minha demora em perceber algumas coisas. Meus agradecimentos aos professores pelo vosso apoio, respeito, paciência, e por aceitarem o desafio que foi esta orientação. Quando pensei em vocês para serem meus orientadores achei que encontraria vosso apoio e de facto me sinto satisfeita com a vossa orientação. Desejo-vos muito sucesso, ânimo e força para continuar esta tarefa de acolher alunos e que eles possam ter em vocês muito mais do que bons orientadores encontrem boas pessoas para trabalharem nesta árdua tarefa que é começar e concluir um trabalho.

Sou grata pelo apoio dos meus familiares, em especial a minha mãe e irmã, que estiveram muito mais próximas durante estes dias. Agradeço pelos mais singelos incentivos, pelo apoio em momentos emotivos, meus sinceros agradecimentos ao vosso apoio.

Aos amigos que também se tornam um pouco irmãos pois foram solícitos e acolhedores, obrigada pelas vossas orações nas tentativas frustradas em fazer as coisas certas e por vezes elas correm mal. Agradeço por permanecerem para perceber que todo sacrifício vale a pena. Obrigada pela vossa inúmeras formas de apoio neste caminho.

Meus sinceros agradecimentos a todos.

Palavras-chave

Resistência a antibióticos, terapia fágica, terapia fotodinâmica, hidrolases da parede celular, bacteriocinas, peptídeos antimicrobianos, *Pedobacter*

Resumo

A resistência bacteriana aos antibióticos tem vindo a tornar progressivamente mais difícil o tratamento de infeções e representa um desafio global no campo da saúde humana. Neste contexto, está em curso uma intensa procura por alternativas aos antibióticos clássicos, que permitam combater microrganismos multirresistentes de forma eficiente. Os peptídeos antimicrobianos, produzidos por diferentes organismos num contexto de defesa ou resposta imune, representam uma perspetiva terapêutica promissora como complemento ou alternativa aos antibióticos. Este trabalho pretende resumir de forma crítica o conhecimento atual sobre peptídeos antimicrobianos e seus mecanismos de ação, no contexto atual de desenvolvimento da resistência bacteriana a antibióticos, destacando algumas das aplicações mais promissoras e apresentando o género *Pedobacter* como exemplo de investigação em curso sobre a produção deste tipo de compostos em bactérias.

keywords

Antibiotic resistance, phage therapy, photodynamic therapy, cell-wall hydrolases, bacteriocins, antimicrobial peptides, *Pedobacter*

Abstract

Bacterial resistance to antibiotics is making the treatment of infections progressively more difficult and represents a global challenge to human health. In this context, there is an intense search for alternatives to classical antibiotics, to efficiently control multi-resistant microbial pathogens. Antimicrobial peptides, produced by different organisms in a context of defense or immune response, represent a promising therapeutic perspective as a complement or alternative to antibiotics. This work intends to critically summarize the current knowledge on antimicrobial peptides and their mechanisms of action, in the current context of development of bacterial resistance to antibiotics, highlighting some of the most promising applications and presenting the genus *Pedobacter* as an example of ongoing research on the production of these compounds in bacteria.

Índice Geral

Índice Geral	i
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO GERAL	5
CAPÍTULO 2: RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS	6
2.1. Resistência bacteriana	6
2.2. Mecanismos de resistência bacteriana contra os principais grupos de antibióticos	6
2.3. Processos de aquisição e disseminação de resistência bacteriana a antibióticos	8
2.4. Exemplos de bactérias patogênicas com elevada frequência de resistência	10
2.5. Desenvolvimento da resistência a antibióticos: causas, prevenção e medidas de mitigação	12
CAPÍTULO 3: ESTRATÉGIAS ALTERNATIVAS DE CONTROLO DE INFEÇÕES	15
3.1. Terapia fágica	16
3.2. Terapia fotodinâmica	17
3.3. Hidrolases da parede celular	19
3.4. Peptídeos antimicrobianos e bacteriocinas	20
CAPÍTULO 4: PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS	22
4.1. Definição	22
4.2. Perspetiva histórica	22
4.3. Categorias de AMPs	24
4.3.1. Categorias de AMPs segundo grupo alvo	24
4.3.2. Estrutura de peptídeos antimicrobianos	25
4.3.3. Mecanismo de Ação dos AMPs	25
4.4. Aplicações dos peptídeos antimicrobianos	27
CAPÍTULO 5: O GÉNERO <i>PEDOBACTER</i> COMO PRODUTOR DE PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS	29
5.1. O género <i>Pedobacter</i>	29
5.2. Metabolitos secundários de <i>Pedobacter</i>	30
CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

LISTA DE ABREVIATURAS

DNA - ácido desoxirribonucleico

AMP - peptídeo antimicrobiano

RNA - ácido ribonucleico

ATP - adenosina trifosfato

FDA - *Food and Drug Administration*

HIV - vírus da imunodeficiência humana

MDR - bactérias multirresistentes

MHC - concentração hemolítica mínima

MIC - concentração mínima inibitória

MRSA - *Staphylococcus aureus*
resistentes à meticilina

OMS - Organização Mundial de Saúde

PBP - transpeptidase de ligação à
penicilina

PDT - terapia fotodinâmica

PS - fotossensibilizador

ROS - espécies reativas ao oxigênio

rRNA - ácido ribonucleico ribossomal

mRNA - ácido ribonucleico mensageiro

tRNA - ácido ribonucleico de
transferência

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Terapias alternativas aos antibióticos, mecanismos de ação, futuras aplicações e limitações.	15
Tabela 2. Local de isolamento e características fenotípicas distintivas de espécies bacterianas pertencentes ao género <i>Pedobacter</i> .	29
Tabela 3. Principais características das pedopeptinas A, B e C de <i>Pedobacter</i> sp. SANK 72003.	30
Tabela 4. Atividade de metabólitos produzidos pelo género <i>Pedobacter</i> sp. SANK 7193 e <i>Pedobacter</i> sp. V48.	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelos de interação entre peptídeos antimicrobianos e membrana celular. A, B – modelo do tapete; C – modelo do barril; D – modelo toroidal (de acordo com Sato & Feix, 2006)._____ 26

CAPITULO 1: INTRODUÇÃO GERAL

A resistência bacteriana tornou-se, nos últimos anos, um sério problema de saúde. O crescente número de microrganismos resistentes aos antibióticos levanta o problema da falta de estratégias terapêuticas eficazes para as doenças infecciosas. A preocupação dos especialistas reside no facto destes microrganismos não infetarem apenas pacientes em unidades de cuidados hospitalares, mas também por constituírem um risco para a comunidade de forma geral.

Desde 2001 que a Organização Mundial de Saúde vem promovendo discussões sobre o tema, no sentido de definir estratégias eficazes no combate aos microrganismos patogénicos, controlar a disseminação de genes de resistência no ambiente e promover o desenvolvimento de novos fármacos e de terapias alternativas aos antibióticos, procurando assim melhorar a capacidade de respostas às infeções.

O presente trabalho pretende sumariar informações sobre novas alternativas aos antibióticos. Foi realizada pesquisa na literatura científica dirigida a abordagens bactericidas e/ou bacteriostáticas eficazes contra os microrganismos incluindo os que adquiriram genes de resistência aos antibióticos. Foram analisadas as abordagens envolvendo terapia fágica, terapia fotodinâmica, hidrolases da parede celular e bacteriocinas dando ênfase em particular nos peptídeos antimicrobianos e compostos naturais produzidos por bactérias do género *Pedobacter* com efeito bactericida ou bacteriostático. Foram descritos os fundamentos dos mecanismos de inativação apresentando exemplos de aplicações contra diferentes microrganismos, e foram também discutidas algumas das vantagens e limitações de cada uma das terapias.

No âmbito dos peptídeos antimicrobianos, procurou-se apresentar os diferentes mecanismos de ação e os fatores que interagem na determinação da eficiência de inibição, dar exemplos de aplicações e apresentar o género *Pedobacter* como exemplo da investigação em curso nesta área. O objetivo do trabalho é contribuir para uma perspetiva do potencial dos péptideos antimicrobianos como alternativa ou complemento aos antibióticos clássicos num contexto de aumento da frequência de bactérias multirresistentes.

CAPÍTULO 2: RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS

2.1. Resistência bacteriana

A OMS afirma que a resistência bacteriana acontece quando um fármaco deixa de ter efeito contra bactérias patogênicas, devido ao surgimento de alterações no microrganismo alvo (World Health Organization, 2016). As bactérias adaptam-se a diferentes ambientes através de alterações genotípicas e fenotípicas a que podem estar associadas variações significativas dos seus perfis de suscetibilidade a compostos antimicrobianos. Este processo faz com que estas se tornem resistentes aos antibióticos utilizados na terapêutica, que deixam assim de ser eficazes no combate dos microrganismos patogênicos (Erickson et al., 2017).

Consideram-se como bactérias multirresistentes (*multi-drug resistant*, MDR) os microrganismos patogênicos que deixam de apresentar suscetibilidade a três, ou mais, categorias de antibióticos em uso na clínica (Magiorakos et al., 2012). A emergência de bactérias MDR representa uma preocupação de saúde a nível mundial e torna premente o desenvolvimento de alternativas terapêuticas (Shatzkes et al., 2016).

2.2. Mecanismos de resistência bacteriana contra os principais grupos de antibióticos

A resistência aos antibióticos está associada a mecanismos adquiridos, principalmente através de transferência horizontal de genes (Hughes & Andersson, 2017) e que envolvem (a) a alteração da permeabilidade da membrana da célula bacteriana, o que dificulta o influxo do fármaco pela bactéria e sua futura atuação; (b) a expressão de bombas de efluxo que evitam que a concentração intracelular do fármaco atinja a concentração inibitória; (c) modificações químicas no rRNA em regiões funcionais, catalisadas por enzimas de resistência que diminuem a capacidade de ligação do antibiótico, impedindo sua ação; (d) alterações moleculares na membrana celular da bactéria que ocasionam modificações nas ligações específicas entre o fármaco e o seu local de ação (McCusker & Fujimori, 2012; Sun et al., 2014; Ndieyira et al., 2017).

Estes mecanismos de resistências se relacionam com os principais grupos de antibióticos e com os seus modos de ação. Os antibióticos β -lactâmicos têm efeito bacteriostático e atuam impedindo a atividade das enzimas transpeptidases e carboxipeptidases que estão vinculadas ao processo de biossíntese do peptidoglicano (Williamson et al., 1986). Contra os antibióticos β -lactâmicos os microrganismos desenvolvem enzimas chamadas de β -lactamases que os hidrolisam, impedindo sua atuação (Bush, 1988). Contra a ação dos antibióticos β -lactâmicos, as bactérias de Gram negativo utilizam uma estratégia de diminuição da permeabilidade da membrana citoplasmática e a redução da afinidade de ligação, por exemplo, à penicilina (Andersen, 1990).

O mecanismo de ação dos antibióticos aminoglicosídeos envolve a sua ligação aos ribossomos do patógeno, impedindo a leitura do mRNA e, consequentemente, a síntese proteica (Recht et al., 1999). Alguns antibióticos desta família, como a paromomicina, a neomicina e a gentamicina se ligam ao tRNA (Lynch & Puglisi, 2001). Nestes fármacos, o mecanismo de resistência bacteriana envolve a ação de nucleotidiltransferases, fosfotranferases e acetiltransferases que alteram diferentes grupos químicos dos antibióticos, como -OH ou NH_2 (Ramirez & Tolmasky, 2010). A resistência bacteriana aos aminoglicosídeos pode também envolver a expressão de bombas de efluxo diminuindo a concentração do antibiótico dentro da célula bacteriana (Garneau-Tsodikova & Labby, 2016).

O mecanismo de ação dos quinolonas consiste na indução de alterações nas enzimas DNA girase e topoisomerase IV, que causam fragmentação do cromossoma do patógeno (Aldred et al., 2014; Correia et al., 2017). Em relação aos antibióticos da família das quinolonas, os microrganismos desenvolvem alterações nas enzimas DNA girase e topoisomerase IV do patógeno, através de mutações pontuais que enfraquecem as ligações entre os antibióticos e as enzimas-alvo. A resistência bacteriana pode também resultar da diminuição da concentração intracelular do fármaco através da redução da absorção, ou por aumento do seu efluxo (Aldred et al., 2014).

As cefalosporinas permeabilizam a membrana externa das bactérias de Gram negativo e aumentam sua afinidade às PBPs (proteínas de ligação à penicilina) (Jones & Barry, 1983; Yotsuji et al., 1988) que são, nomeadamente, D-ala-D-ala trans-, carboxi e endo-peptidases e que estão associadas à síntese do peptidoglicano (Livermore, 1987). O mecanismo de resistência está associado a alterações na proteína transportadora (pen A)

juntamente com outras mutações cromossômicas (Barry & Klausner, 2009). Em *Bacillus fragilis* G-232 a PBP é alterada para PBP3, o que diminui a sua afinidade às cefalosporinas, por exemplo, ceftézol, cefazolina e cefalotina (Livermore, 1987; Yotsuji et al., 1988). Nas bactérias resistentes há aumento da expressão de β -lactamases no espaço periplasmático, reduzindo a entrada do fármaco no compartimento intracelular, ocorrendo ainda acilação das cefalosporinas (Neu, 1987).

Os glicopeptídeos causam inibição da biossíntese do peptidoglicano, agindo de forma específica no dipeptidil, precursor do peptidoglicano. Fármacos como a vancomicina podem atuar na membrana citoplasmática (Norris & Nicas, 2003) e com o precursor do lípido II (Allen et al., 1992; Ruzin et al., 2004). O mecanismo de resistência dos patógenos contra os antibióticos glicopeptídeos consiste na diminuição da afinidade do fármaco ao precursor do peptidoglicano, substituindo o local de ligação D-alanil-D-lactato ou D-alanil-D-Serina (D-Ala-D-Ser) por acil-D-Alanil-D-Alanina (D-Ala-D-Ala) (Binda et al., 2014).

2.3. Processos de aquisição e disseminação de resistência bacteriana a antibióticos

A resistência a antibióticos é codificada por genes que podem ser adquiridos através da transferência horizontal entre diferentes microrganismos (Blair et al., 2014). A transferência horizontal de genes contribui para a diversificação do genoma das bactérias, uma vez que elevadas quantidades de DNA podem ser incluídas ou deletadas do cromossoma e, por vezes, de plasmídeos. A transferência horizontal de genes está associada a alterações fenotípicas relacionadas, nomeadamente com fatores de virulência e suscetibilidade a agentes antimicrobianos (Ziebuhr et al., 1999; Ochman et al., 2000; McCarthy et al., 2014).

Nos microrganismos a transferência horizontal acontece através de conjugação, transdução e transformação. A conjugação permite a troca de material genético entre duas bactérias por contato direto. Neste processo ocorre aquisição de novos genes, através dos plasmídeos conjugativos. Os plasmídeos conjugativos estão relacionados com a expressão de fatores que estimulam organização das bactérias em biofilmes, o que por sua vez aumenta a oportunidade de contacto entre as células e estimula a transferência de genes através dos plasmídeos (Ghigo, 2001; Sørensen et al., 2005). A transdução, envolve troca de material genético entre bactérias, mediada por bacteriófagos (Jiang & Paul, 1998). Os bacteriófagos são vírus que infetam bactérias e transferem genes que, por vezes, conferem

vantagens ao hospedeiro, permitindo a sua sobrevivência no ambiente, bem como a disseminação de genes de resistência (Muniesa et al., 2013; Xia & Wolz, 2014; Von et al., 2016). A transformação, que consiste na inclusão de DNA livre no genoma da bactéria e sua recombinação (Thomas & Nielsen, 2005). As bactérias possuem a capacidade de absorver, integrar e expressar DNA exógeno com origem na mesma espécie ou entre espécies diferentes, disseminando genes de resistência (Boucher et al., 2007; Domingues et al., 2012).

Os plasmídeos, bacteriófagos, transposões e integrões, estão envolvidos nos processos de transferência de genes (Frost et al., 2005). Os plasmídeos são elementos genéticos extra-cromossomais, compostos de DNA que se replicam de forma autônoma (Thomas & Nielsen, 2005; Lee et al., 2010). Estes são utilizados para a transferência de genes para populações distintas, alterando desta forma o seu genoma (Dimitriu et al., 2015).

Os plasmídeos permitem o desenvolvimento de sistemas de adaptação específicos para meios fisiológicos e ecológicos. Os plasmídeos degradativos conferem à célula a capacidade de degradar diferentes tipos de compostos de origem natural ou artificial (Basta et al, 2004; Shintani et al., 2010). Quando inseridos no genoma da bactéria, permitem uma maior adaptação ao ambiente, e podem ser transferidos na comunidade (Basta et al, 2004; Smalla et al., 2015). Os plasmídeos de virulência e de resistência contêm genes que codificam respetivamente para fatores de virulência ou de resistência a compostos antimicrobianos (Villa et al., 2010).

Os bacteriófagos ou fagos contribuem para a grande diversidade viral, e podem, através da transferência horizontal de genes, aumentar a diversidade genética ao inserirem novos genes no genoma da bactéria recetora (Pedulla et al., 2003). Os fagos também estão relacionados com fatores de virulência, permitindo maior mobilidade de genes dentro de uma população (Abedon & Lejeune, 2005).

Os transposões são elementos genéticos móveis que podem ser inseridos em qualquer posição do DNA do hospedeiro (Hallet & Sherratt, 1997) passando a integrar o genoma e, posteriormente, fazer uso da sua maquinaria de replicação para duplicar o seu material genético juntamente com o DNA do hospedeiro (Grohmann, 2010; Lee et al., 2010; Johnson & Grossman, 2015). Os transposões de procariotas podem ser classificados em três grupos: sequências de inserção, transposões simples e transposões compostos que contêm genes bacterianos franqueados por repetições invertidas de sequências de inserção.

A mudança de localização de fragmentos de DNA e a sua inserção dentro de genes pode interromper a sequência codificante e inativar ou alterar a sua expressão do gene (Berg et al., 1984; Blot, 1994). Os transposões bacterianos estão envolvidos em relações de simbiose e de patogênese e contribuem para a disseminação de genes de resistência a antibióticos (Tenover, 2006; Lee et al., 2010; Szuplewska et al., 2014).

Os integrões são sistemas genéticos de captura e expressão de genes de resistência que contêm sequências de recombinação que lhes permitem integrar-se na cadeia de DNA (Lee et al., 2010 ; Barraud & Ploy, 2015). Contêm normalmente um gene que codifica para uma recombinase específica, uma sequência de recombinação que é reconhecida pela recombinase e um promotor que regula a transcrição da cassete de genes. Os integrões possibilitam a resposta rápida a modificações no ambiente através da excisão ou captura e expressão de genes de resistência e estão assim diretamente envolvidos na sua disseminação (Loot et al., 2010; Starikova et al., 2012; Jechalke et al., 2013; Barraud & Ploy, 2015).

No processo de aquisição de resistência bacteriana aos antibióticos, os genes de resistência podem ter diferentes efeitos, nomeadamente alterar o alvo de ação do bactericida, alterar a entrada e acumulação do antibiótico, provocar a elevação da resistência ao fármaco. Outro processo pelo qual as bactérias também podem se tornar resistentes é a mutação em diversos genes envolvidos em processos essenciais para a célula. As mutações ocorrem em genes que codificam essas atividades contribuindo para a manutenção e disseminação da resistências aos antibióticos (Jacoby, 2005; Moura et al., 2017).

2.4. Exemplos de bactérias patogénicas com elevada frequência de resistência

São conhecidos mecanismos de resistência a antibióticos em bactérias de Gram positivo e de Gram negativo (Santajit & Indrawattana, 2016). *Staphylococcus aureus* é uma bactéria de Gram positivo causadora de doença em humanos e animais. Tem sido demonstrada a existência de estirpe resistentes a diferentes antibióticos, entre os quais a meticilina, utilizada no combater a infeções graves, por exemplo, nosocomiais (Stapleton & Taylor, 2002; Suzuki et al., 2012; Wittebole et al., 2013 Cater et al., 2017). A meticilina é um antibiótico β -lactâmico utilizado no combate a *Staphylococcus* resistente às penicilinas. Na comunidade, este patógeno pode formar biofilmes e, assim, aumentar a sua

capacidade de resistência, nomeadamente aos antibióticos (Sabath, 1982; Ng et al., 2014). *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), ocorre também na população saudável não exposta a ambiente hospitalar o que demonstra uma elevada capacidade de disseminação na comunidade (Chambers & Deleo, 2009).

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria de Gram negativo e normalmente está relacionada com infeções respiratórias oportunistas em pacientes com fibrose cística (Huse et al., 2010). Esta bactéria possui uma grande capacidade de adaptação a diversos ambientes e ocorre frequentemente biofilmes, pelo que as infeções causadas por este microrganismo representam um desafio às terapias em uso (Opperman & Nguyen, 2015). No tratamento de infeções respiratórias por *P. aeruginosa* em pacientes com fibrose cística usam-se aminoglicosídeos, frequentemente combinados com antibióticos β -lactâmicos. Contudo, *P. aeruginosa* tem vindo progressivamente a desenvolver resistência aos aminoglicosídeos (Poole, 2005; Floyd et al., 2016). Os mecanismos de resistência estão relacionados com bombas de efluxo, aquisição de genes de resistência através de plasmídeos, transposões e integrões (Poole, 2005).

Klebsiella pneumoniae é também uma bactéria de Gram negativo que provoca doenças como pneumonia e bacteremia (Holden et al., 2016). Esta bactéria tem estado associada a infeções com perfis de multirresistência em diferentes locais do mundo (Kidd et al., 2017). Na terapia convencional são usados antibióticos β -lactâmicos, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, trimetopim e sulfametazóis (Sekowska et al., 2002; Kumar et al., 2011). No entanto, são cada vez mais frequentes os casos de resistência de *Klebsiella pneumoniae* a carbapenemos (Sekowska et al., 2002). O mecanismo de resistência envolve transferência horizontal de genes através de plasmídeos e transposões (Arnold et al., 2011).

Acinetobacter baumannii é uma bactéria de Gram negativo. Pode estar associada a patologias como a bacteremia, pneumomonia, meningite e infeções urinárias, entre outras (Maragakis & Perl, 2008). Um exemplo de antibiótico utilizado contra a bactéria *Acinetobacter baumannii* que entretanto tem vindo a perder eficácia é a polimixina (Moffatt et al., 2010). Os antibióticos colistina, imipenemo e rifampicina são utilizados como primeira linha de tratamento. Em caso de resistência, o imipenemo é utilizado conjuntamente com o cilastanina e o ampicilina com sulbactam (Wood et al., 2002; Cisneros-Herreros et al., 2005). Os mecanismos de resistências são a produção de β -

lactamases, a expressão de bombas de efluxo, a alteração dos alvos de ação dos antibióticos e a alteração da permeabilidade da membrana (Lee et al., 2017).

2.5. Desenvolvimento da resistência a antibióticos: causas, prevenção e medidas de mitigação

Um grande desafio ao controlo das infeções é a diminuição do risco de exposição da população a microrganismos resistentes. A fim de se monitorizar os pontos críticos de disseminação, é importante estabelecer procedimentos de vigilância, realizar análises de riscos de infeção e implementar novas tecnologias com a finalidade de evitar a contaminação do ambiente, diminuindo, assim, a pressão seletiva do microrganismo (Berendonk et al., 2015; Viale et al., 2015).

Algumas das principais causas apontadas para o aumento da resistência aos antibióticos são a sua venda livre, sem prescrição médica, a sua prescrição e utilização de forma incorreta e a falta de controlo por parte das entidades reguladoras (Llor & Bjerrum, 2014; Ayukekbong et al., 2017). O uso empírico de antibióticos de grande espectro é também uma prática que tem contribuído para a dissiminação de resistência (Paterson & Bonomo, 2005; Katchanov et al., 2017). A prevenção do aumento da resistência a antibióticos das bactérias de relevância clínica nos ambientes hospitalares, passa pelo estabelecimento de medidas de diagnóstico que assegurem a prescrição adequada (Om et al., 2016; Du et al., 2017). Outra estratégia é o uso de diferentes antibióticos conjugados para se obter resultados mais eficazes e a adoção de novos critérios que permitam adequar a dosagem na terapêutica, para otimizar o seu efeito (Hernandez et al., 2015; Richardson, 2015). É ainda necessário usar antibióticos mais seletivos no seu espectro de ação (Pulcini & Gyssens, 2013). A redução do tempo de permanência do paciente em ambiente hospitalar tem sido, também, uma estratégia de controlo da difusão de resistência (Niwa et al., 2012). Diferentes perfis de bactérias resistentes a antibióticos têm sido associadas a infeções nosocomiais, aumentando o número de casos de pacientes infetados por estes organismos patogénicos, elevando, assim, as taxas de mortalidade (Brusselsaers et al., 2011; Ventola, 2015). Por isso, quanto menor o tempo de internamento nas unidades de saúde, menor é o risco do paciente de ser infetados por patógenos resistentes e, consequentemente, menor é a mortalidade e menores são os custos financeiros para os

estados (Brusselaers et al., 2011; Ventola, 2015). Para além das aplicações na saúde humana os antibióticos são utilizados em pecuária para prevenção de infeções (Economou & Gousia, 2015) e esta prática está associada ao problema do aumento da resistência a antibióticos (Landers et al., 2012; Ayukekbong et al., 2017). O uso veterinário também está associado às resistências em reservatórios ambientais, como água de consumo e ambientes marinhos (Finley et al., 2013; Andersson & Hughes, 2014). Foram encontrados, por exemplo, resíduos do antibiótico tetraciclina em solo do qual foram isolados *Enterococcus faecalis* resistentes à tetraciclina (Agersø et al., 2006). A poluição química exerce sobre as bactérias ambientais uma pressão seletiva que favorece a disseminação de genes de resistência (Tello et al., 2012; Wellington et al., 2013; Balcázar et al., 2015). Em suma, a utilização incorreta dos antibióticos e outros fatores como poluição com metais e desinfetantes, fazem com que haja redução das população sensíveis relativamente às resistente (Seiler & Berendonk, 2012).

A disseminação de microrganismos patogénicos multirresistentes nomeadamente a partir de fontes ambientais, como a água, tornou-se uma grande preocupação para a comunidade. Algumas bactérias, tais como *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, podem disseminar genes de resistência nas comunidades bacterianas de água e solos e desse modo e através destas fontes introduzir bactérias resistentes, mesmo que não patogénicas, no microbiota humano (Vaz-Moreira et al., 2014). Assim, o controle da disseminação de resistência a antibióticos passa pela análise dos perfis de resistência das bactérias ambientais e pela compreensão das principais formas de contaminação (Pandey et al., 2014).

A mobilidade de pessoas e produtos à escala global podem contribuir para a disseminação da resistência (Kuenzli, 2016). Neste contexto, torna-se ainda mais importante avaliar a qualidade de alimentos e água, principalmente, nos países em desenvolvimento (Kuenzli, 2016). O rastreio sanitário para viajantes que estiveram em países com alta prevalência de microrganismos multirresistentes (Petersen & Mohsin, 2016) e, no caso dos viajantes com sintomas de infeções gastrointestinais, pode ser também necessário para a correta prescrição de antibióticos (Kantele et al., 2015). A comercialização e consumo de alimentos contaminados com microrganismos multirresistentes, por exemplo, produtos de origem animal, tem sido, também, uma forma de disseminar as bactérias (Gómez et al., 2014). Para combater a disseminação desses

microrganismos, a União Européia impõe limites às concentrações de antibióticos presentes nos alimentos de origem animal (Hao et al., 2014).

Na tentativa de alertar o público para o problema da resistência aos antibióticos, têm sido promovidas atividades de informação e consciencialização dirigidas a estudantes, pacientes e profissionais da área da saúde e cidadãos em geral, dando ênfase à temática das infecções bacterianas, uso dos antibióticos, cuidados ao prescrever antibióticos e cuidados de higiene pessoais (Laxminarayan & Klugman, 2011; Lee et al., 2013).

Os problemas de saúde têm um elevado custo financeiro para os estados e, por isso, têm também sido feitos investimentos avultados na procura de novas alternativas terapêuticas e de novas formas de produção de antibióticos (Lee et al., 2013; Kim et al., 2017).

CAPÍTULO 3: ESTRATÉGIAS ALTERNATIVAS DE CONTROLO DE INFEÇÕES

Face à crescente resistência das bactérias aos antibióticos têm sido propostas estratégias alternativas de controlo de microrganismos patogénicos menos suscetíveis de gerar por parte dos microrganismos respostas de adaptação ou desenvolvimento de resistência. Os bacteriófagos, as bacteriocinas, que mostram atividade contra diversas bactérias patogénicas (Hathaway et al., 2017), as hidrolases da parede celular que possuem a capacidade de causar hidrólise no peptidoglicano (Parisien et al., 2007) e a terapia fotodinâmica são exemplos destas alternativas (Tabela 1).

Tabela 1. Terapias alternativas aos antibióticos, mecanismos de ação, futuras aplicações e limitações.

Alternativa terapêutica antimicrobiana	Mecanismo de ação	Vantagens	Limitações	Referências
Terapia Fágica	Fagos líticos causam lise da bactéria hospedeira	Eficaz contra microrganismos resistentes a antibióticos	Disponibilidade de fagos específicos	(Stewart & Levin, 1984; Abedon, 2015; Roach & Donovan, 2015; Erez et al., 2017)
Terapia Fotodinâmica	Interação entre um fotossensibilizador excitado pela luz e o oxigénio molecular gera ROS	Abordagem multi-alvo que não gera resistência	Depende do acesso a luz	(Castano et al., 2004; Sperandio et al., 2013; Cieplik et al., 2014; Alves et al., 2015; Bartolomeu et al., 2016)
Hidrolases da parede celular	Hidrólise enzimática de componentes da parede celular	Eficaz contra bactérias resistentes a antibióticos	Necessidade da produção destas enzimas em grande escala	(Fuglsan et al., 1995; Szweda et al., 2012; Becker et al., 2016; Wittekind & Schuch, 2016)

Bacteriocinas	Peptídeos sintetizados nos ribossomas das bactérias permeabilizam as membranas dos microrganismos patogénicos	Elevada variedade das suas estruturas e funções	Possibilidades de desenvolvimento de resistência	(Drider et al., 2006; Cotter et al., 2012; Yang et al., 2014 ; Morton et al., 2015) McCaughey et al., 2016)
----------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------	--------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------

3.1. Terapia fágica

A terapia fágica faz uso de bacteriófagos ou fagos que, são vírus que infetam bactérias. Os fagos podem ser classificados em temperados e/ou virulentos (Stewart & Levin, 1984). Os vírus temperados podem interagir com o hospedeiro, mantendo-se em condições de dormência dentro da célula hospedeira. Os bacteriófagos virulentos, após a invasão da célula bacteriana, o vírus replica-se através do ciclo lítico, pelo qual estabelece interações com a bactéria e replica o seu material genético juntamente com o do hospedeiro, em que o vírus utiliza a maquinaria da bactéria para sintetizar novos vírus, e a infeção culmina com a lise da bactéria hospedeira (Feiner et al., 2015; Roach & Donovan, 2015; Erez et al., 2017).

Os fagos mais utilizadas em terapia fágica encontram-se nas famílias Myoviridae, Siphoviridae e Podoviridae (Ackermann, 2007; Kaliniene et al., 2017).

Uma das vantagens da terapia fágica deve-se ao facto desta ser altamente seletiva relativamente ao microrganismo alvo (Mattila et al., 2015). Estes vírus infetam famílias de bactérias específicas (Ceyssens & Lavigne, 2010; Deghorain & Van Melderren, 2012). Os fagos só se replicam num hospedeiro adequado, reduzindo os danos causados ao microbiota normal (Clark & March, 2004). Outro benefício desta terapia é que estando disponíveis os fagos correspondentes, é eficaz no combate a bactérias de Gram positivo e também de Gram negativo (Kropinski, 2006; Green et al., 2017). Na terapia fágica existe, ainda, a possibilidade de se conjugar diferentes fagos numa mistura (*cocktail*) de maneira a potencializar as suas atividades inibitórias, aumentando, assim, a eficácia da terapia, relativamente à utilização de um só fago (Abedon, 2015). Um *cocktail* com três fagos foi usado para combater microrganismos resistentes a antibióticos relacionada com infeções urinárias, entre os quais *Enterobacter cloacae* tendo sido observada uma elevada eficiência de inativação (Pereira et al., 2016).

As limitações da terapia fágica relacionam-se com a disponibilidade de fagos, o tempo de utilização do tratamento e a dosagem administrada (Parracho et., 2012; Mirzaei & Nilsson, 2015). Estes fatores limitam o uso da terapia pois a sua utilização baseia-se na escolha adequada do fago para combater determinado tipo de bactéria e nos métodos de preparação dos bacteriófagos, que estão relacionados com o sucesso da aplicação. Os fagos devem apresentar fator de virulência contra a bactéria alvo e também se encontrar em condições viáveis para uso na terapia (Gill & Hyman, 2010). Além disso, é preciso uma elevada concentração de fagos que se mantenham estáveis no decorrer do tempo (Ly-Chatain, 2014). A falta de ensaios bem projetados e diretrizes que estabeleçam os critérios que devem ser aplicados nos ensaios clínicos em humanos acabam por limitar a aprovação da terapia pelos órgãos reguladores (Knoll & Mylonakis, 2014). Para análise da eficácia da terapia é necessária a aplicação de ensaios clínicos controlados *in vivo* o que tem um elevado custo associado (Adhya et al., 2014). É ainda necessidade de diretrizes que contenham as condições adequadas para o fabrico e as formulações que permitam uso de fagos em humanos (Knoll & Mylonakis, 2014). Embora aspetos como eficácia, segurança e disponibilidade para se obter fagos específicos em aplicações terapêuticas sejam levados em consideração, ainda limitam o seu uso em aplicações clínicas (Abedon, 2015).

3.2. Terapia fotodinâmica

A terapia fotodinâmica utiliza como princípio de ação a interação da luz de comprimento de onda específico com um fotossensibilizador (PS) não tóxico, na presença do oxigénio (Cieplik et al., 2014). O PS é irradiado e passa para um estado de maior energia (excitado) mas pode retornar ao estado fundamental transferindo energia para o oxigénio molecular (mecanismo tipo II), gerando oxigénio singleto ou para um substrato (mecanismo tipo I) gerando espécies reativas de oxigénio (ROS) (Castano et al., 2004; Wainwright & Crossley, 2004; Kim et al., 2015). Os oxigénios singleto e os ROS causam danos letais nas células levando à sua inativação (Alves et al., 2015).

Como PSs podem ser usados compostos sintéticos ou naturais. Para serem considerados efetivos, eles devem acumular-se nas células dos patógenos (Wainwright, 1998). A ligação do PS às células é importante porque o oxigénio singleto e os ROS têm um tempo de vida muito curto e, por isso, têm que ser produzidos muito perto do alvo (Garland et al., 2009; Maisch, 2009). A parede e a membrana celular da bactéria, através

de reações de oxidação, sobretudo, de lípidos e proteínas, são os principais alvos do efeito fotodinâmico (Fang et al., 2016), sem que ocasione grandes danos nos tecidos do hospedeiro (Huang et al., 2010).

Existem diferentes tipos de PSs utilizados na terapêutica, com diferentes capacidades de inativação (Allison et al., 2004; Maisch, 2009). Os primeiros PSs utilizados na terapia fotodinâmica antimicrobiana, ou seja, os de primeira geração, foram derivados de hematoporfirina, compostos naturais do tipo porfirínico (Dougherty et al., 2015; Jori, 2006; Nyman & Hynninen, 2004). Estes foram testados com sucesso contra as bactérias de Gram negativo (e.g. *Escherichia coli*) e de Gram positivo (e.g. *Staphylococcus epidermidis*) (Maisch et al., 2005) mas apresentavam a limitação de serem excitados com luz de comprimentos de onda com baixa penetração na pele. Isto motivou o desenvolvimento de PSs de segunda geração, incluindo porfirinas sintéticas, ftalocioaninas, naftalocioaninas, clorinas e bacterioclorinas e seus derivados. Estes são aplicados em infecções agudas e crônicas contra bactérias de Gram positivo e de Gram negativo (Sharma et al., 2011; Sperandio et al., 2013; Yoon et al., 2013). No entanto, estes compostos de segunda geração são, na sua maioria, pouco solúveis, por isso, foram desenvolvidos PSs de terceira geração, mais seletivos e com menos efeitos colaterais, como as fenotiazinas, porfirinas e ftalocioaninas conjugadas como outros elementos que facilitem a sua ligação às células alvo (Donnelly et al., 2008). Estes compostos têm sido aplicados com sucesso contra bactérias multirresistentes nomeadamente MRSA (Jori, 2006). A grande vantagem da terapia fotodinâmica é a capacidade de causar lise e/ou inibir o crescimento de diferentes tipos bactérias, de Gram positivo (por ex., *Staphylococcus aureus*) e de Gram negativo (por ex., *Pseudomonas aeruginosa*) (Sperandio et al., 2013; Hanakova et al., 2014). Demonstra grande potencial para inibir vários patógenos, como fungos, protozoários, vírus e bactérias, tanto sensíveis como resistentes a antibióticos (Maisch et al., 2005; Donnelly et al., 2008; Kharkwal et al., 2012). Além disso, esta terapia é localizada e não está associada à indução de resistência (Dai et al., 2009). As limitações da terapia fotodinâmica consistem nas diferenças das estruturas da parede celular dos microrganismos (fungos e bactérias) (Maisch et al. 2004; Donnelly et al., 2008). A membrana celular de bactérias de Gram negativo é constituída por um bicamada lipídica que dificulta a permeabilidade dos PSs utilizados com maior frequência (Demidova & Hamblin, 2004). Já as bactérias de Gram positivo possuem uma espessa camada de peptidoglicano, o que facilita a ligação e penetração do PS (Hamblin & Hasan, 2004). Os

fungos, para além da membrana celular e parede celular, possuem também um invólucro nuclear, dificultando o efeito da terapia (Lam et al., 2011). No caso das leveduras, por exemplo na espécie *Candida albicans*, é necessária uma maior concentração de PS devido ao seu elevado tamanho (Fekrazad et al., 2015). Outra grande limitação é que só pode aplicar ao tratamento de infeções superficiais ou de tecidos que possam ser irradiados (Hamblin & Hasan, 2004; Kharkwal et al., 2012).

3.3. Hidrolases da parede celular

As hidrolases da parede celular são enzimas que hidrolisam o peptidoglicano da parede celular das bactérias, provocando sua morte (Wittekind & Schuch, 2016). Este processo envolve a clivagem dos principais elementos que constituem a parede celular bem como das ligações no peptidoglicano e atuam nos diferentes tipos de bactérias de Gram positivo e Gram negativo (Fuglsang et al., 1995; Sharma et al., 2016).

As bactérias produzem uma diversidade de hidrolases que demonstram exercer mais de uma função, nomeadamente o controlo regulatório das atividades celulares, realização de cortes em ligações do peptidoglicano, separação das células durante o processo de divisão e autólise (Heidrich et al., 2002; Vollmer et al., 2008). As hidrolases da parede celular estão envolvidas com atividades essenciais das células bacterianas, tais como a sobrevivência em ambientes diversificados, modelagem da forma da bactéria e manutenção da integridade do peptidoglicano (Fridrich & Gaynor, 2013; Wittekind & Schuch, 2016). Estas enzimas possuem a capacidade de construir, remodelar e degradar o peptidoglicano presente nas paredes celulares e, conseqüentemente, participam de atividades essenciais da célula, como crescimento e divisão (Antignac et al., 2007; Uehara & Bernhardt, 2011). Relacionam-se, também, com a capacidade de estimular a resposta imune no hospedeiro (Humann & Lenz, 2009).

Este grupo de enzimas pode ser subdividido em classes, lisozimas e autolisinas (Parisien et al., 2007). Uma das mais estudadas é a lisozima, uma hidrolase que degrada o peptidoglicano provocando lise em bactérias e possui grande variedade de aplicações terapêuticas (Nash et al., 2006; Callewaert et al., 2011). As hidrolases de parede celular apresentam como vantagens a alta especificidade, a segurança, a elevada amplitude do espectro de ação, a alta eficiência, a atividade contra patógenos resistentes a antibióticos, como por exemplo, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* e *Streptococcus*

pneumoniae e a reduzida capacidade dos patógenos desenvolverem resistência (Díez-Martínez et al., 2013; Pastagia et al., 2013). Além disso, estas enzimas podem ser utilizadas para manter a qualidade microbiológica em alimentos de origem animal (Smith et al., 2014). Também demonstram elevado potencial em atividades *in vitro* e também *in vivo* portanto podem ser utilizadas como novas alternativas terapêuticas aos antibióticos (Becker et al., 2016; Wittekind & Schuch, 2016). Contudo, de maneira a potencializar a terapia, as hidrolases podem ser utilizadas juntamente com antibióticos. A terapia combinada contribui para diminuir a resistência bacteriana, bem como aumentar o efeito bactericida contra diferentes microrganismos patogênicos (Szweda et al., 2012).

Uma das limitações desta terapia está relacionada com a necessidade da produção destas enzimas em grande escala e em organismos heterólogos (Szweda et al., 2012). Outra desvantagem é o elevado custo de produção de algumas dessas enzimas, por exemplo as autolisinas (Parisien et al., 2008; Osipovitch & Griswold, 2015). Há pouco conhecimento a respeito das propriedades bioquímicas e funções das hidrolases endógenas. Algumas bactérias, por exemplo, *Escherichia coli*, possuem várias hidrolases cuja a correlação entre suas funções e as suas propriedades ainda não está definida (Van Heijenoort, 2011).

3.4. Peptídeos antimicrobianos e bacteriocinas

Os peptídeos antimicrobianos são produzidos por diversos microrganismos e demonstram grande potencial de inativação contra diferentes patógenos. Estes têm ação antiviral, antifúngica, antiparasitária e bactericida. Possuem mecanismos de ação estabelecidos e diversificadas estruturas (primárias e secundárias) (Jenssen et al., 2006; Rotem & Mor, 2009). Demonstram ser bons candidatos para aplicações terapêuticas, uma vez que possuem baixa capacidade de promover resistência nos patógenos e grande espectro de ação. Contudo, existem algumas limitações, como a sua biodisponibilidade, imunogenicidade, toxicidade e elevados custos de produção (Rotem & Mor, 2009).

Bacteriocinas são peptídeos antimicrobianos produzidos por bactérias, cuja síntese ocorre nos ribossomos. Estas possuem a capacidade de lise ou de inativação de diferentes estirpes de bactérias próximas, sem no entanto afetar a estirpe produtora, pois esta apresenta mecanismo de defesa específico (Drider et al., 2006; Yang et al., 2014).

A produção de bacteriocinas é uma característica frequente entre bactérias. Apesar de serem conhecidas diferentes moléculas com particularidades estruturais, o seu

funcionamento é bastante semelhante (Morton et al., 2015). As bacteriocinas ligam-se a células alvo por meio de interações eletrostáticas e hidrofóbicas e provocam permeabilização na membrana celular dos microrganismos, causando alterações morfológicas e perturbações em importantes processos celulares (Daw & Falkner, 1996; Drider et al., 2006). O mecanismo de ação das bacteriocinas baseia-se na ligação a componentes da parede à formação de poros. Em algumas bacteriocinas, a formação de poros é acompanhada da inibição da síntese da parede uma vez que a molécula de ancoragem da bacteriocina é o lípido II, um precursor da biossíntese de peptidoglicano (Hécharde & Sahl, 2002; El Ghachi et al., 2006). Outros mecanismos envolvidos na ação destes peptídeos antimicrobianos são a despolarização das membranas lipídicas, a inibição da síntese proteica ou a degradação de ácidos nucleicos (James et al., 2002; Nissen-Meyer et al., 2010).

As bacteriocinas têm potencial como terapêutica alternativa aos antibióticos, devido à elevada variedade das suas estruturas e grande espectro de ação (Cotter et al., 2012). Têm sido testadas aplicações das bacteriocinas em infeções bacterianas, uma vez que estas conseguem eliminar ou inibir diversos patógenos, inclusive microrganismos resistentes e biofilmes (Yang et al., 2014; McCaughey et al., 2016).

Uma das limitações da utilização terapêutica das bacteriocinas na terapia decorre da possibilidade de desenvolvimento de resistência específica por alguns microrganismos patogénicos (Cotter et al., 2012). Outra limitação está relacionada a falta de resultados de testes *in vivo* de algumas das moléculas que se revelaram mais promissoras em testes *in vitro* (Kirkup, 2006).

CAPÍTULO 4: PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS

4.1. Definição

Os peptídeos antimicrobianos (*antimicrobial peptides*, AMPs) são moléculas naturais ou sintéticas (Bahar & Ren, 2013; Galdiero et al., 2015) capazes de atuar contra um grande espectro de microrganismos: sobre vírus, bactérias, fungos (Bahar & Ren, 2013; Gordon et al., 2005; Rios et al., 2016), parasitas e células tumorais (Rios et al., 2016).

Os AMPs são cadeias heterogêneas curtas (Galdiero et al., 2015) de baixa peso molecular (< 25-30 KDa) (Cruz et al., 2014), que diferem entre si no comprimento, composição em aminoácidos, a maioria com 11 a 50 resíduos (Wang, 2013), e estrutura secundária (Nguyen et al., 2011). São moléculas catiónicas, cuja atividade antimicrobiana está relacionada com a carga do AMPs e tamanho (Brogden, 2005; Galdiero et al., 2015; Pane et al., 2017), características que contribui para que apresentem diferentes propriedades físico-químicas e distintas formas de atuação biológica (Brogden, 2005). A sua atividade, embora possa ocorrer em alvos específicos no citoplasma (Brogden, 2005; Galdiero et al., 2015), resulta de interações eletrostáticas, responsáveis pela ligação do AMPs às membranas das bactérias, carregada negativamente (Galdiero et al., 2015) com a qual interagem e onde se inserem (Epand & Vogel, 1999; Brogden, 2005).

Os AMPs são produzidos, por diversos organismos, procariotas, protozoários, fungos, plantas, animais (Cruz, et al., 2014; Galdiero et al., 2015), sendo considerados como elementos da resposta imune inata (Nguyen et al., 2011; Galdiero et al., 2015; Pane et al., 2017).

4.2. Perspetiva histórica

O primeiro AMP descoberto foi a lisozima (Nakatsuji & Gallo, 2012; Rios et al., 2016). Substância descrita em 1922, por Fleming, primeiramente isolada a partir de secreções nasais de um paciente, e que revelou atividade contra aquela que, para efeitos de comunicação, foi designada de *Micrococcus lysodeikticus* (Fleming, 1922). Desde então, foram isolados, a partir de várias fontes (células, tecidos, sistemas), muitos outros compostos de natureza proteica, cerca de 2000 (Wang, 2013), 2852 até 2017 (<http://aps.unmc.edu/AP>, 12.12.2017) com ação antimicrobiana e que podem servir de

modelos para a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos (www.camp3.bicnirrh.res.in, Waghu et al., 2016).

Em 1939 foram isoladas substâncias (gramicidinas), produzidas por bacilos (*Bacillus brevis*) (Nakatsuji & Gallo, 2012), isolados a partir de uma amostra de solo, e capazes de eliminarem pneumococos em ratos infectados (Dubos, 1939). Nos anos posteriores, novos peptídeos foram descobertos. Em 1940 outro composto, a polimixina B, foi isolada a partir de *Bacillus polymyxa* (Kanazawa et al., 2009). A polimixina B possui atividade contra bactérias de Gram negativo, *Escherichia coli*, (Kanazawa et al., 2009; Deris, et al., 2014), *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* (Kanazawa et al., 2009).

Também em 1939 foi isolado um outro AMP, a lactoferrina, a partir de leite de vaca (Adlerova et al., 2008). Posteriormente foi isolado e purificado a partir de leucócitos polimorfonucleados e vários fluídos biológicos de diversos mamíferos (Levy, 1996). A lactoferrina é uma glicoproteína que se liga ao ferro presente nos fluidos biológico e pertencente à família de transferrina (Adlerova et al., 2008; Fernandes & Carter, 2017). Em humanos, este AMP é sintetizado principalmente por células epiteliais (Fernandes & Carter, 2017), está presente na urina, nos fluidos gastrointestinais, fluidos vaginais, lágrima, bÍlis, suor, saliva sendo abundantemente no leite (Adlerova et al., 2008; (Fernandes & Carter, 2017). Esta substância é ativa contra vírus, bactérias, de Gram positivos e Gram negativos, fungos e protozoários (Adlerova et al., 2008; González-Chávez et al., 2009), possibilitando, em terapia combinada e por apresentarem sinergia com outros fármacos antifúngicos, a redução das doses com eficácia terapêutica (Fernandes & Carter, 2017).

Uma outra substância isolada a partir de células animais é a fagocitina. Aquela, isolada em 1956, a partir de neutrófilos de coelho, (Hirsch, 1956; Levy, 1996) mostrou atividade marcada sobre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Shigella sonnei* (Hirsch, 1956). Outras substâncias tem contribuído para o conjunto de várias centenas de peptídeos antimicrobianos, isolados a partir de insetos (Lee et al., 2015), anfÍbios (Zasloff, 1987), células sanguíneas (Selsted et al., 1985; Zanetti et al., 1995), ou produzidas outras células, tecidos (Khurshid et al., 2017) ou sistemas (<http://aps.unmc.edu/AP>). Insetos também são fonte de produtos antimicrobianos (Józefiak & Engberg, 2017). Refira-se, como exemplo as cecropinas, identificadas em 1980, substância isolada a partir de *Hyalophora cecropia* (Lee et al., 2015), as magaininas (Zasloff, 1987; 1988), descritas em

1987 e isoladas da pele de *Xenopus laevis* (Zasloff, 1987), as histatinas, descritas em 1998 (Khurshid et al., 2017) e as catelicidinas, estas últimas apresentam atividade contra estirpes de *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* (Zanetti et al., 1995) *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e espécies de *Enterobacter* (Wang et al., 2014).

4.3. Categorias de AMPs

A classificação dos AMPs é difícil devido à sua grande diversidade (Zasloff, 2002) podendo ser realizada segundo vários critérios que incluem, por exemplo, o grupo alvo sobre o qual atuam.

4.3.1. Categorias de AMPs segundo grupo alvo

Quanto aos microrganismos-alvo, os AMPs podem ser categorizados como anti-virais, anti-bacterianos, anti-fúngicos e anti-parasitários (Narayana & Chen, 2015). Alguns apresentam um grande espectro de ação, enquanto outros são mais seletivos, sendo eficazes apenas contra alguns microrganismos (Nordström & Malmsten, 2017).

Os AMPs antivirais são uma classe composta por aproximadamente 158 peptídeos (Wang, 2013) (181, <http://aps.unmc.edu/AP>, em 12.12.2017). Apresentam diferentes atividades antivirais, alguns atuam no momento da adsorção, podendo estabelecer uma atuação direta sobre o invólucro viral (Jenssen et al., 2006).

Os AMPs antibacterianos constituem no momento a maior categoria de AMPs tendo 2449 peptídeos (<http://aps.unmc.edu/AP>, em 12.12.2017), número significativamente superior aos 1768 reportados em 2013 (Wang, 2013).

Os antifúngicos são a segunda maior categoria de AMPs, pois possuem aproximadamente 1047 peptídeos (<http://aps.unmc.edu/AP>, em 12.12.2017). Um dos principais representantes desta classe é a histatina que tem potente atividade contra *Candida albicans* (Troxler et al., 1990; Han et al., 2016).

Os AMPs antiparasitários possuem a atividade de combater diferentes espécies, provocando lise osmótica nos protozoários. Esta classe de AMPs é composta por

aproximadamente 48 peptídeos (Wang, 2013). A Magainina, uma das substâncias deste grupo, tem atividade antiparasitária, com potencial de inibir a ação dos parasitas em diferentes etapas do seu desenvolvimento. Neste processo, interrompe o ciclo de desenvolvimento parasitário (Lacerda et al., 2016).

4.3.2. Estrutura de peptídeos antimicrobianos

De entre os vários critérios passíveis de ser utilizados na sua classificação, aquele que abrange mais peptídeos antimicrobianos é o que os associa com base na sua estrutura secundária (Zasloff, 2002). De acordo com este critério podem ser associados em três (Guilhelmelli et al., 2013)/quatro grupos (Hancock, 1997; Seo et al., 2012).

Os AMPs apresentam estruturas secundárias lineares (ex. indolicidina), α -hélice (ex. cecropinas, magaininas), em dobra ou em folha β (ex. batenecinas, defensinas) (Zasloff, 2002), estas estabilizadas por duas a quatro ligações dissulfureto (Wang et al., 2016). Estas estruturas associadas às diferentes constituições em aminoácidos determinam os mecanismos de interação com as células-alvo (Wang et al., 2015).

4.3.3. Mecanismo de Ação dos AMPs

Os peptídeos antimicrobianos exercem sua ação ao alterarem a permeabilidade da membrana celular, mas também inibindo a síntese da parede ou a atividade enzimática de microrganismos patogénicos (Guilhelmelli et al., 2016). Aquelas diferenças de estruturas/mecanismo alvo permitem que os AMPs possam ser agrupados em duas famílias de acordo com os principais mecanismos de atuação (Wang, 2013). O primeiro grupo corresponde às moléculas que atuam sobre a membrana citoplasmática, induzindo a sua permeabilização e, consequentemente a interrupção de seu normal funcionamento. O mecanismo de inibição ou morte celular pode ser explicado pela formação de poros na membrana, que no extremo, levam à sua rutura (Sato & Feix, 2006; Lee et al., 2016). O segundo grupo corresponde a compostos cujos alvos de atuação são essencialmente intracelulares, nomeadamente sobre os ácidos nucleicos (Wang, 2013). No entanto, mesmo estes incluídos no segundo grupo, interagem com a membrana celular de forma a serem translocados para o compartimento intracelular. Assim, para além de membrana

citoplasmática, os AMPs podem afetar vários outros alvos (Hale & Hancock, 2007; Malanovic & Lohner, 2016).

A maioria dos AMPs possuem regiões polares e apolares, resultantes da segregação de resíduos com aquelas características, podem-se ligar a constituintes hidrofóbicos e hidrofílicos das membranas bacterianas (Malanovic et al., 2016) induzindo alterações na sua estrutura e integridade (Bechinger, 2015). A membrana celular é, assim o primeiro alvo da ação dos AMPs, pelo que a ligação dos AMPs aos lipídios membranares, particularmente aos lípidos aniônicos (Malanovic & Lohner 2016).

A interação entre AMP e a bicamada lipídica pode ser descrita segundo 3 modelos principais, referidos normalmente como modelos do tapete, do barril e toroidal (Brogden, 2005; Sato & Feix, 2006; Sengupta et al., 2008). No modelo do tapete (Figura 1, A, B), os AMP ligam-se aos fosfolípidos aniônicos através de numerosas interações eletrostáticas, concentram-se sobre a membrana e assumem orientação paralela à sua superfície. Quando presentes em concentrações elevadas induzem o desenvolvimento de poros na membrana e, em fase mais adiantada, a sua fragmentação (Sato & Feix, 2006; Dean et al., 2010).

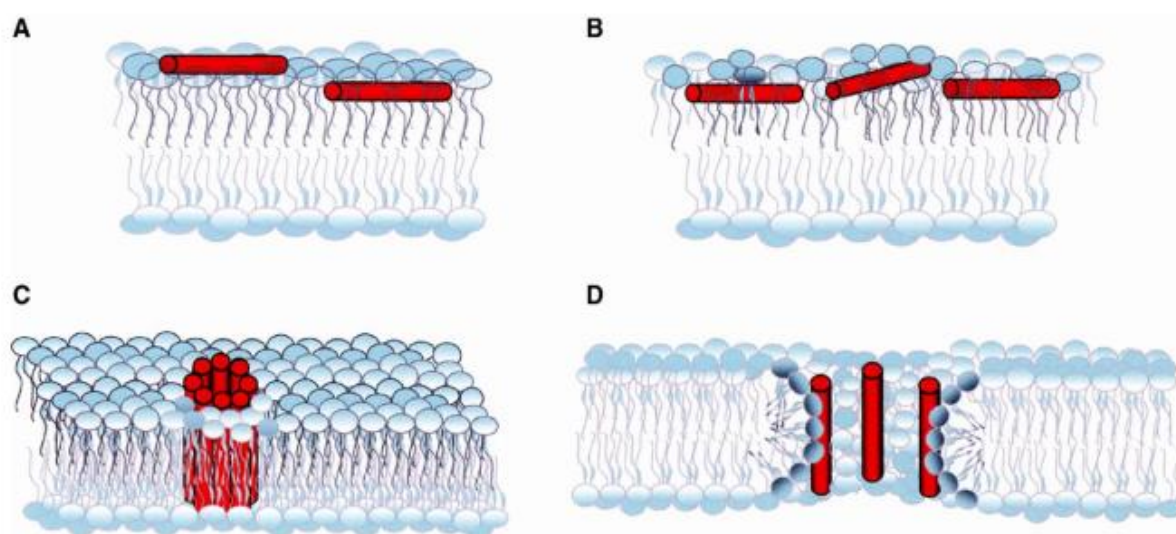


Figura 1. Modelos de interação entre peptídeos antimicrobianos e membrana celular. A, B – modelo do tapete; C – modelo do barril; D – modelo toroidal (de acordo com Sato & Feix, 2006).

Dean e colaboradores (2010) apresentam evidências de que, pelo menos alguns peptídeos antivirais, atuam principalmente segundo o modelo do tapete (Dean et al., 2010).

No modelo do barril, as moléculas de AMP (e.g. alameticina) organizam-se em feixes cilíndricos (Figura 1, C) em que as regiões hidrofóbicas contactam diretamente com

a bicamada fosfolipídica orientados para o interior do cilindro formando um poro transmembranar (Pieta et al., 2012).

No modelo toroidal os AMP helicoidais introduzem-se na membrana e obrigam a uma alteração da conformação da bicamada lipídica que passa a formar um contínuo (dobra) (Figura 1, D). Este canal formado pela dobra da bicamada lipídica é revestido por hélices de AMP e pelas cabeças hidrofóbicas dos lípidos membranares, sendo esta a grande diferença relativamente ao modelo toroidal (Allende et al., 2005; Huang, 2006; Yang et al., 2001).

Alguns AMPs apresentam mecanismos de ação não membranares. Skalickova e coautores (2015) documentam a atividade de AMPs que, bloqueiam a entrada de vírus em células hospedeiras ao impedirem a sua adsorção, outros destroem o invólucro viral, atuando alguns na replicação viral, inibindo-a. Em bactérias, podem inibir a síntese de parede celular. Outro dos efeitos pode ser a inibição de enzimas ou de vias de biossíntese. As defensinas, atuam ao nível da membrana citoplasmática (Nakajima et al., 2003) mas também bloqueando a incorporação de aminoácidos e consequentemente a síntese proteica, a síntese de RNA e DNA bem como a sua reparação (Brogden, 2005). Alguns AMP ligam-se ao DNA e RNA bacteriano levando à morte da célula por bloqueio de funções intracelulares, mesmo quando presentes em concentrações tão baixas que não causam danos significativos na membrana (Brogden, 2005). Alguns peptídeos antifúngicos interagem com a membrana aniônica de forma eletrostática, permeabilizam-na, provocando a sua rutura, atuando, posteriormente, a nível intracelular afetando a integridade do núcleo (Sharma et al., 2017).

4.4. Aplicações dos peptídeos antimicrobianos

Os AMPs têm merecido especial atenção devido às inúmeras possibilidades de suas aplicações, ao espectro de células alvo, como fonte alternativa contra agentes infecciosos multi-resistentes (Jindal et al., 2015) mas também por possibilitarem que os seus farmacóforos sejam a base para novas moléculas antimicrobianas (Rapsch et al., 2014; Jindal et al., 2015; www.camp3.bicnirrh.res.in, em 12.12.2017).

Para além de atuarem contra diversos tipos de microrganismos a sua ação contra células cancerígenas (Papo & Shai, 2005; Schweizer, 2009) e a sua potencial aplicação na preservação de alimentos também está documentada (Kraszewska et al., 2016). No que

concerne ao tratamento oncológico, têm sido mencionadas a possibilidade de utilização dos AMPs na terapia, *per si* ou combinada (Gaspar et al., 2013), mas também, as limitações associadas à quimioterapia convencional (Deslouches & Di, 2017), para estimular a pesquisa e desenvolvimento de peptídeos com eficácia terapêutica e aplicável a situações por exemplo em que a terapia é refratária. Alguns dos mecanismos descritos indicam que aqueles atuam nas células com cancro através de eventos como necrose ou apoptose (Al-Benna et al., 2011).

Os AMPs englobam uma elevada e diversificada classe de produtos naturais, mais de 2400 compostos identificados, produzidos por grande diversidade de seres vivos e com uma elevada possibilidade serem a base para o desenvolvimento de novos fármacos. As suas vantagens dos AMPs estão relacionadas com a menor probabilidade de desenvolvimento de resistência e com o seu grande espectro de atuação, uma vez que são ativos contra vírus, bactérias de Gram negativo e de Gram positivo, bem como fungos. As perspectivas de aplicações futuras dos peptídeos antimicrobianos são bastante promissoras, os seus potenciais em ensaios *in vitro* têm sido bem documentados. Além disso, os resultados mostram sua ação contra diferentes microrganismos patogénicos, superando, em alguns casos, os efeitos dos fármacos utilizadas atualmente.

CAPÍTULO 5: O GÉNERO *PEDOBACTER* COMO PRODUTOR DE PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS

5.1. O género *Pedobacter*

Em 1956 foram isoladas, pela primeira vez, a partir de solo, bactérias pertencentes ao género *Pedobacter*, tendo-lhe sido atribuído o nome de *Flavobacterium heparinum* (Steyn et al., 1998). Desde a proposta de criação do género *Pedobacter* (Steyn et al., 1998) outras espécies foram descritas (Tabela 2). Em 2003, uma bactéria, isolada a partir de glaciário localizado nos Alpes, revelou-se, com base em estudos genéticos, e filogenéticos, ser uma espécie nova, tendo sido descrita sob o nome de *Pedobacter cryoconitis* (Margesin et al., 2003). Em 2005 uma nova espécie, *Pedobacter himalayensis*, foi descrita a partir de isolados obtidos a partir de uma amostra proveniente de uma fonte natural dos Himalaias Indianos (Shivaji et al., 2005).

Tabela 2. Local de isolamento e características fenotípicas distintivas de espécies bacterianas pertencentes ao género *Pedobacter*.

Espécie	Características	Local de amostragem	Referência
<i>Pedobacter cryoconitis</i>	Não cresce em meio MacConkey e apresenta sensibilidade a antibióticos	Glaciário dos Alpes	(Margesin et al, 2003)
<i>Pedobacter heparinus</i>	Cresce em meio de cultura ágar nutritivo	Solo	(Han et al., 2009) (Steyn et al, 1998)
<i>Pedobacter himalayensis</i>	Cresce em meios de culturas diferentes	Água de glaciário dos Himalaias, Índia	(Shivaji et al, 2005)
<i>Pedobacter piscium</i>	Não cresce em meio de cultura MacConkey	Espécie de peixe do oceano Atlântico Sul, África do Sul	(Steyn et al., 1998)

O género *Pedobacter* (família *Sphingobacteriaceae*) (Steyn et al., 1998) engloba 72 (www.bacterio.net/pedobacter.html, acessado em 20/12/2017) espécies das quais 15 estão descritas sob as designações: *Pedobacter africanus*, *P. aquatilis*, *P. caeni*, *P. cryoconitis*, *P. ginsengisoli*, *P. heparinus*, *P. himalayensis*, *P. piscium*, *P. roseus*, *P. saltans*, *P. sandakarinus*, *P. suwonensis* (Yoon et al., 2007 e bibliografia citada), *P. arcticus* (Yin et al., 2012), *P. boryungensis* (Jung et al., 2012), *P. terrae* (Yoon et al., 2007). É caracterizado por agrupar bactérias de Gram negativo, em forma de bastonete, imóveis,

aeróbias obrigatórias (Jung et al., 2012; Steyn et al., 1998; Yoon, et al., 2007). São capazes de colonizar ambientes terrestres diversos (Steyn et al., 1998; Yoon, et al., 2007; Jung et al., 2012; Yin et al., 2012; Santos et al., 2015) ou ocorrer associados ao microbioma de várias espécies (Baquiran et al., 2013; Charan et al., 2013; Estes et al., 2013; Ott et al., 2015).

5.2. Metabolitos secundários de *Pedobacter*

Espécies do gênero *Pedobacter* produzem compostos com atividade antimicrobiana denominados de pedopeptina. Estão, dentro daquele grupo, caracterizadas três substâncias ativas, pedopeptinas A (1), B (2) e C (3) (Tabela 3), com estruturas, propriedades físico-químicas e potenciais de inativação em diferentes bactérias (Hirota-Takahata et al., 2014).

Tabela 3. Principais características das pedopeptinas A, B e C de *Pedobacter* sp. SANK 72003.

Nome do composto	Estirpe	Estrutura	Referência
Pedopeptina A	<i>Pedobacter</i> sp. SANK 72003	Apresenta um átomo de oxigênio a mais que as outras pedopeptinas e possui um aminoácido β -hidrovalina em sua composição	(Hirota-Takahata et al., 2014)
Pedopeptina B	<i>Pedobacter</i> sp. SANK 72003	Apresenta estrutura homóloga B e C. Tem um átomo de oxigênio a menos do que a pedopeptina A e apresenta em sua composição um aminoácido de Valina	(Hirota-Takahata et al., 2014)
Pedopeptina C	<i>Pedobacter</i> sp. SANK 72003	Apresenta estrutura homóloga B e C. Tem um átomo de oxigênio a menos que a pedopeptina A	(Hirota-Takahata et al., 2014)

Aqueles compostos, produzidos por bactérias do gênero *Pedobacter*, possuem potencial aplicação clínica, potencial demonstrado, a partir de ensaios efetuados contra bactérias, G+/G-: *E.coli* ATCC 47076, *E.coli* NIHJ-JC2, *S. aureus* ATCC 6538P e *S. epidermis* ATCC14990 e fungos (Tabela 4) (Kozuma et al., 2014).

Tabela 4. Atividade de metabólitos produzidos pelo género *Pedobacter* sp. SANK 7193 e *Pedobacter* sp. V48.

Estirpe	Atividade	Referência
<i>Pedobacter</i> sp. NL19	Inibe o crescimento de Gram negativo e Gram positivo	(Santos et al., 2015)
<i>Pedobacter</i> sp. SANK 72003	Atividade inibitória contra bactéria de Gram negativo	(Hirota-Takahata et al., 2014; Kozuma et al., 2014)
<i>Pedobacter</i> sp. V48	Antifúngico	(Garbeva et al., 2011)
<i>Pedobacter cryoconitis</i> AJ438170	Inibição do fungo <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>	(Woodhams et al., 2007)

Uma outra espécie do género *Pedobacter* (*P.* sp. NL19) demonstrou potente atividade contra bactérias de Gram positivo e de Gram negativo. O seu potencial de inativação evidencia a atividade bactericida em ensaio *in vitro* contra *Aeromonas hydrophilla* ATCC 7966, *Listeria monocytogenes* 71 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (Santos et al., 2015).

A produção de peptídeos antimicrobianos (AMPs) pode estar relacionada com os sinais emitidos pelos microrganismos patogénicos (Rollins-Smith, 2009). A estirpe *Pedobacter* sp. V48 produz metabolitos com ação antifúngica, exibindo um potencial de inativação quando associada à estirpe *Pseudomonas fluorescens* (Bitzer et al., 2014) (Tabela 3). As bactérias *Pedobacter* sp. V48 e *Pseudomonas fluorescens* estirpe Pf0-1, quando submetidas a um meio de cultura pobre em agar, interagem entre si e originam a produção de compostos antifúngicos (Garbeva et al., 2011).

Estudos comprovam que os compostos produzidos pelas bactérias deste género possuem o potencial de inativação contra diferentes microrganismos, porém para que estas moléculas sejam aplicadas na clínica é necessário um maior conhecimento sobre as suas propriedades, funções e mecanismo de ação.

CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES

A descoberta dos antibióticos permitiu o controlo de doenças infecciosas e contribuiu para o aumento significativo da esperança de vida a que se assistiu a partir da segunda metade do século XX. Porém, nos últimos anos, os microrganismos patogénicos têm vindo a expressar resistência aos antibióticos comuns em uso clínico, o que tem vindo a tornar estes fármacos progressivamente menos eficazes.

A investigação na área dos peptídeos antimicrobianos está em linha com as advertências da Organização Mundial de Saúde quanto à necessidade de novas abordagens terapêuticas ao controlo de infeções, nomeadamente as causadas por microrganismos multirresistentes.

A grande diversidade dos peptídeos antimicrobianos descobertos até ao momento e sobretudo o conhecimento que tem vindo a ser progressivamente construído sobre a relação entre a sua estrutura, o seu mecanismo de interação com os sistemas membranares e os seus efeitos biológicos, têm servido de base para o desenho de novos fármacos antimicrobianos.

A disponibilidade de genomas bacterianos completamente sequenciados, como é o caso de espécies do género *Pedobacter*, tem vindo a pôr em evidência o potencial de diversas estirpes para a produção de péptidos antimicrobianos e de outros metabolitos secundários com atividade antimicrobiana.

Um número significativo de fármacos baseados em peptídeos antimicrobianos está já aprovado pela Food & Drug Administration e em fase de testes clínicos ou pré-clínicos representando uma perspetiva promissora para o combate a infeções na “era do pós-antibiótico”.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abedon, S. T. (2015). Phage therapy of pulmonary infections. *Bacteriophage*, 5(1), e1020260.
- Abedon, S. T., & Lejeune, J. T. (2005). Why bacteriophage encode exotoxins and other virulence factors. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 97–110.
- Ackermann, H. W. (2007). 5500 Phages examined in the electron microscope. *Archives of Virology*, 152 (2) 227-243.
- Adhya, S., Merril, C. R., & Biswas, B. (2014). Therapeutic and prophylactic applications of bacteriophage components in modern medicine. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4 (1) 012510-012518.
- Agersø, Y., Wulff, G., Vaclavik, E., Halling-Sørensen, B., & Jensen, L. B. (2006). Effect of tetracycline residues in pig manure slurry on tetracycline-resistant bacteria and resistance gene tet(M) in soil microcosms. *Environment International*, 32(7), 876–882.
- Al-Benna, S., Shai, Y., Jacobsen, F., & Steinstraesser, L. (2011). Oncolytic Activities of host defense peptides. *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 12 (11) 8027-8051.
- Adlerova, L., Bartoskova, A., & Faldyna, M. (2008) Lactoferrin: a review. *Veterinarni Medicina*, 53(9): 457-468.
- Aldred, K. J., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*, 53 (5) 1563-1574.
- Allen, N. E., Hobbs, J. N., Richardson, J. M., & Riggins, R. M. (1992). Biosynthesis of modified peptidoglycan precursors by vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *FEMS Microbiology Letters*, 77(1–3), 109–115.
- Allende, D., Simon, S. A., & McIntosh, T. J. (2005). Melittin-Induced Bilayer Leakage Depends on Lipid Material Properties: Evidence for Toroidal Pores. *Biophysical Journal*, 88(3), 1828–1837.
- Allison, R. R., Downie, G. H., Cuenca, R., Hu, X. H., Childs, C. J., & Sibata, C. H. (2004). Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1 (1) 27-42.
- Alves, E., Esteves, A. C., Correia, A., Cunha, Â., Faustino, M. A. F., Neves, M. G. P. M. S., & Almeida, A. (2015). Protein profiles of *Escherichia coli* and *Staphylococcus warneri* are altered by photosensitization with cationic porphyrins. *Photochem.*

- Photobiol. Sci.*, 14(6), 1169–1178.
- Andersen, B. M. (1990). Bacterial resistance against beta-lactam antibiotics. *Tidsskrift for Den Norske Laegeforening: Tidsskrift for Praktisk Medicin, Ny Raekke*, 110(25), 3233–3239.
- Andersson, D. I., & Hughes, D. (2014). Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nature Reviews Microbiology*, 12(7), 465–478.
- Antignac, A., Sieradzki, K., & Tomasz, A. (2007). Perturbation of Cell Wall Synthesis Suppresses Autolysis in *Staphylococcus aureus*: Evidence for Coregulation of Cell Wall Synthetic and Hydrolytic Enzymes. *Journal of Bacteriology*, 189(21), 7573–7580.
- Arnold, R. S., Thom, K. A., Sharma, S., Phillips, M., Kristie Johnson, J., & Morgan, D. J. (2011). Emergence of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing Bacteria. *Southern Medical Journal*, 104(1), 40–45.
- Ayukekbong, J. A., Ntemgwa, M., & Atabe, A. N. (2017). The threat of antimicrobial resistance in developing countries: causes and control strategies. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 6(1), 47.
- Bahar, A. A., & Ren, D. (2013). Antimicrobial peptides. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 6(12), 1543–1575.
- Balcázar, J. L., Subirats, J., & Borrego, C. M. (2015). The role of biofilms as environmental reservoirs of antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, 6(10), 1216.
- Baquiran, J.-P., Thater, B., Sedky, S., De Ley, P., Crowley, D., & Orwin, P. M. (2013). Culture-Independent investigation of the microbiome associated with the nematode *Acrobeloides maximus*. *Plos ONE*, 8(7), e67425.
- Barraud, O., & Ploy, M.-C. (2015). Diversity of Class 1 Integron Gene Cassette Rearrangements Selected under Antibiotic Pressure. *Journal of Bacteriology*, 197(13), 2171–2178.
- Barry, P., & Klausner, J. D. (2009). The use of cephalosporins for gonorrhea: The impending problem of resistance. *Expert Opin Pharmacother*, 10(4), 555–577.
- Bartolomeu, M., Rocha, S., Cunha, Â., Neves, M. G., Faustino, M. A. F., & Almeida, A. (2016). Effect of Photodynamic Therapy on the Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*, 7, 267–270.
- Basta, T., Keck, A., Klein, J., & Stolz, A. (2004). Detection and characterization of

- conjugative degradative plasmids in xenobiotic-degrading *Sphingomonas* strains. *Journal of Bacteriology*, 186(12), 3862–3872.
- Bechinger, B. (2015). The SMART model: Soft Membranes Adapt and Respond, also Transiently, in the presence of antimicrobial peptides. *Journal of Peptide Science*, 21(5), 346–355.
- Becker, S. C., Roach, D. R., Chauhan, V. S., Shen, Y., Foster F.J., Powell, A. M., & Donovan, D. M. (2016). Triple-acting Lytic Enzyme Treatment of Drug-Resistant and Intracellular *Staphylococcus aureus*. *Scientific Reports*, 6(1), 25063.
- Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., Martinez, J. L. (2015). Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 310–317.
- Berg, D. E., Lodge, J., Sasakawa, C., Nag, D. K., Phadnis, S. H., Weston-Hafer, K., & Carle, G. F. (1984). Transposon Tn5: specific sequence recognition and conservative transposition. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 49, 215–226.
- Binda, E., Marinelli, F., & Marcone, G. (2014). Old and New Glycopeptide Antibiotics: Action and Resistance. *Antibiotics*, 3(4), 572–594.
- Blair, J., Webber, M., Baylay, A., Ogbolu, D., & Piddock, L. (2014). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Chemical Communications*, 47(14), 4055–4061.
- Bitzer, A. S., Garbeva, P., & Silby, M. W. (2014). Draft Genome Sequence of *Pedobacter* sp. Strain V48, Isolated from a Coastal Sand Dune in the Netherlands. *Genome Announcements*, 2(1), e00094-14-e00094-14.
- Blot, M. (1994). Transposable elements and adaptation of host bacteria. *Genetica*, 93(1–3), 5–12.
- Boucher, Y., Labbate, M., Koenig, J. E., & Stokes, H. W. (2007). Integrons: mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria. *Trends in Microbiology*, 15(7), 301–309.
- Brogden, K. A. (2005). Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nature Reviews Microbiology*, 3(3), 238–250.
- Brusselaers, N., Vogelaers, D., & Blot, S. (2011). The rising problem of antimicrobial resistance in the intensive care unit. *Annals of Intensive Care*, 1(1), 47.
- Bush, K. (1988). Beta-lactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Clinical Microbiology Reviews*, 1(1), 109–123.
- Callewaert, L., Walmagh, M., Michiels, C. W., & Lavigne, R. (2011). Food applications of

- bacterial cell wall hydrolases. *Current Opinion in Biotechnology*, 22(2), 164–171.
- Castano, A. P., Demidova, T. N., & Hamblin, M. R. (2004). Mechanisms in photodynamic therapy: Part one - Photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 46 (1) 7-23
- Cater, K., Dandu, V. S., Bari, S. M. N., Lackey, K., Everett, G. F. K., & Hatoum-Aslan, A. (2017). A Novel *Staphylococcus* Podophage Encodes a Unique Lysin with Unusual Modular Design. *mSphere*, 2(2), e00040-17.
- Ceyssens, P.-J., & Lavigne, R. (2010). Bacteriophages of *Pseudomonas*. *Future Microbiology*, 5(7), 1041–1055.
- Chambers, H. F., & Deleo, F. R. (2009). Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews. Microbiology*, 7(9), 629–641.
- Charan, S. S., Pawar, K. D., Severson, D. W., Patole, M. S., & Shouche, Y. S. (2013). Comparative analysis of midgut bacterial communities of *Aedes aegypti* mosquito strains varying in vector competence to dengue virus. *Parasitology Research*, 112(7), 2627-2637.
- Cieplik, F., Tabenski, L., Buchalla, W., & Maisch, T. (2014). Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens. *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media SA, 12 (5), 405.
- Cisneros-Herreros, J. M., Garnacho-Montero, J., & Pachón-Ibáñez, M. E. (2005). Nosocomial pneumonia due to *Acinetobacter baumannii*. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiologia Clinica*, 23 (3) 46–51.
- Clark, J. R., & March, J. B. (2004). Bacterial viruses as human vaccines?. *Expert Review of Vaccines*, 3(4), 463–476.
- Correia, S., Poeta, P., Hébraud, M., Capelo, J. L., & Igrejas, G. (2017). Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand?. *Journal of Medical Microbiology*, 66(5), 551–559.
- Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2012). Bacteriocins — a viable alternative to antibiotics? *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 95–105.
- Cruz, J., Ortiz, C., Guzmán, F., Fernández-Lafuente, R., & Torres, R. (2014). Antimicrobial Peptides: Promising Compounds Against Pathogenic Microorganisms. *Current Eye Research*, 21(20), 23.
- Dai, T., Huang, Y. Y., & Hamblin, M. R. (2009). Photodynamic therapy for localized infections-State of the art. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 6 (3) 170-188.

- Daw, M. A., & Falkner, F. R. (1996). Bacteriocins: Nature, function and structure. *Micron*, 27 (6) 467-479.
- Dean, R. E., O'Brien, L. M., Thwaite, J. E., Fox, M. A., Atkins, H., & Ulaeto, D. O. (2010). A carpet-based mechanism for direct antimicrobial peptide activity against vaccinia virus membranes. *Peptides*, 31(11), 1966–1972.
- Deghorain, M., & Van Melderren, L. (2012). The *Staphylococci* phages family: an overview. *Viruses*, 4(12), 3316–3335.
- Demidova, T. N., & Hamblin, M. R. (2004). Photodynamic therapy targeted to pathogens. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 17 (3) 245-253.
- Deris, Z. Z., Akter, J., Sivanesan, S., Roberts, K. D., Thompson, P. E., Nation, R. L., Velkov, T. (2014). A secondary mode of action of polymyxins against Gram-negative bacteria involves the inhibition of NADH-quinone oxidoreductase activity. *The Journal of Antibiotics*, 67(2), 147–151.
- Deslouches, B., & Di, Y. P. (2015). Antimicrobial peptides with selective antitumor mechanisms: prospect for anticancer applications. *Oncotarget*, 8(28), 46635–46651.
- Díez-Martínez, R., De Paz, H., Bustamante, N., García, E., Menéndez, M., & García, P. (2013). Improving the lethal effect of Cpl-7, a pneumococcal phage lysozyme with broad bactericidal activity, by inverting the net charge of its cell wall-binding module. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(11), 5355–5365.
- Dimitriu, T., Misevic, D., Lindner, A. B., & Taddei, F. (2015). Mobile genetic elements are involved in bacterial sociality. *Mobile Genetic Elements*, 5(1), 7–11.
- Domingues, S., Harms, K., Fricke, W. F., Johnsen, P. J., da Silva, G. J., & Nielsen, K. M. (2012). Natural Transformation Facilitates Transfer of Transposons, Integrins and Gene Cassettes between Bacterial Species. *PLoS Pathogens*, 8(8), e1002837.
- Donnelly, R. F., McCarron, P. A., & Tunney, M. M. (2008). Antifungal photodynamic therapy. *Microbiological Research*, 163(1)1-12.
- Dougherty, T. J., Gomer, C. J., Henderson, B. W., Jori, G., Kessel, D., Korblik, M., & Peng, Q. (2015). Photodynamic Therapy. *Gynecol Oncologia*, 136(3), 554–561.
- Drider, D., Fimland, G., Hechard, Y., McMullen, L. M., & Prevost, H. (2006). The Continuing Story of Class IIa Bacteriocins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70(2), 564–582.
- Du, W., Chen, H., Xiao, S., Tang, W., & Shi, G. (2017). New insight on antimicrobial therapy adjustment strategies for gram-negative bacterial infection: A cohort study.

Medicine, 96(13), e6439.

- Dubos, R. J. (1939). Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus: II. Protective effect of the bactericidal agent against experimental *Pneumococcus* infections in mice. *The Journal of Experimental Medicine*, 70(1), 11–17.
- Economou, V., & Gousia, P. (2015). Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. *Infection and Drug Resistance*, 1 (8) 49-61.
- El Ghachi, M., Bouhss, A., Barreteau, H., Touzé, T., Auger, G., Blanot, D., & Mengin-Lecreulx, D. (2006). Colicin M exerts its bacteriolytic effect via enzymatic degradation of undecaprenyl phosphate-linked peptidoglycan precursors. *Journal of Biological Chemistry*, 281(32), 22761–22772.
- Epand, R. M., & Vogel, H. J. (1999). Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1462(1–2), 11–28.
- Erez, Z., Steinberger-Levy, I., Shamir, M., Doron, S., Stokar-Avihail, A., Peleg, Y., Sorek, R. (2017). Communication between viruses guides lysis–lysogeny decisions. *Nature*, 541(7638), 488–493.
- Erickson, K. E., Otoupal, P. B., & Chatterjee, A. (2017). Transcriptome-Level Signatures in Gene Expression and Gene Expression Variability during Bacterial Adaptive Evolution. *mSphere*, 2(1), e00009-17.
- Estes, A.M., Hearn, D.J., Snell-Rood, E.C., Feindler, M., Feeser, K., Abebe, T., Hotopp J.C.D., & Moczek, A.P. (2013). Brood ball-mediated transmission of microbiome members in the dung beetle, *Onthophagus taurus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *PLoS One*, 8(11): e79061.
- Fang, Y., Liu, T., Zou, Q., Zhao, Y., & Wu, F. (2016). Water-soluble benzylidene cyclopentanone based photosensitizers for in vitro and in vivo antimicrobial photodynamic therapy. *Scientific Reports*, 6, 28357.
- Feiner, R., Argov, T., Rabinovich, L., Sigal, N., Borovok, I., & Herskovits, A. A. (2015). A new perspective on lysogeny: prophages as active regulatory switches of bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 13(10), 641–650.
- Fekrazad, R., Ghasemi Barghi, V., Poorsattar Bejeh Mir, A., & Shams-Ghahfarokhi, M. (2015). In vitro photodynamic inactivation of *Candida albicans* by phenothiazine dye (new methylene blue) and Indocyanine green (EmunDo®). *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 12(1), 52–57.

- Fernandes, K. E., & Carter, D. A. (2017). The antifungal activity of lactoferrin and its derived peptides: Mechanisms of action and synergy with drugs against fungal pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 8(1), 1–10.
- Finley, R. L., Collignon, P., Larsson, D. G. J., McEwen, S. A., Li, X.-Z., Gaze, W. H., Reid-Smith, R., Timinouni, M., Graham, D. W., & Topp, E. (2013). The Scourge of Antibiotic Resistance: The Important Role of the Environment. *Clinical Infectious Diseases*, 57(5), 704–710.
- Fleming, A. (1922) On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. *Proceedings of The Royal Society B*: 306-317
- Floyd, M., Winn, M., Cullen, C., Sil, P., Chassaing, B., Yoo, D.-G., Gewirtz, A. T., Golberg, J. B., McCarter, L. L., & Rada, B. (2016). Swimming Motility Mediates the Formation of Neutrophil Extracellular Traps Induced by Flagellated *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathogens*, 12(11), e1005987.
- Firdich, E., & Gaynor, E. C. (2013). Peptidoglycan hydrolases, bacterial shape, and pathogenesis. *Current Opinion in Microbiology*, 16 (6) 767-778.
- Frost, L. S., Leplae, R., Summers, A. O., & Toussaint, A. (2005). Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 722–732.
- Fuglsang, C. C., Johansen, C., Christgau, S., & Adler-Nissen, J. (1995). Antimicrobial enzymes: Applications and future potential in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 6(12), 390–396.
- Galdiero, S., Falanga, A., Berisio, R., Grieco, P., Morelli, G., & Galdiero, M. (2015). Antimicrobial Peptides as an Opportunity Against Bacterial Diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 22(14), 1665–1677.
- Garbeva, P., Silby, M. W., Raaijmakers, J. M., Levy, S. B., & Boer, W. De. (2011). Transcriptional and antagonistic responses of *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 to phylogenetically different bacterial competitors. *The ISME Journal*, 5(6), 973–985.
- Garland, M. J., Cassidy, C. M., Woolfson, D., & Donnelly, R. F. (2009). Designing photosensitizers for photodynamic therapy: strategies, challenges and promising developments. *Future Medicinal Chemistry*, 1(4), 667–691.
- Garneau-Tsodikova, S., & Labby, K. J. (2016). Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives. *Med. Chem. Commun*, 7(1), 11–27.
- Gaspar, D., Veiga, A. S., & Castanho, M. A. R. B. (2013). From antimicrobial to

- anticancer peptides. A review. *frontiers in Microbiology*, 4, Article 294.
- Ghigo, J.-M. (2001). Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature*, 412(6845), 442–445.
- Gill, J. J., & Hyman, P. (2010). Phage choice, isolation, and preparation for phage therapy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11(1), 2–14.
- Gómez, D., Azón, E., Marco, N., Carramiñana, J. J., Rota, C., Ariño, A., & Yangüela, J. (2014). Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat-processing environment. *Food Microbiology*, 42, 61–65.
- González-Chávez, S. A., Arévalo-Gallegos, S., & Rascón-Cruz, Q. (2009). Lactoferrin: structure, function and applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33 (4) 301-308.
- Gordon, Y. J., Romanowski, E. G., & McDermott, A. M. (2005). A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Current Eye Research*, 30(7), 505–515.
- Green, S. I., Kaelber, J. T., Ma, L., Trautner, B. W., Ramig, R. F., & Maresso, A. W. (2017). Bacteriophages from ExPEC Reservoirs Kill Pandemic Multidrug-Resistant Strains of Clonal Group ST131 in Animal Models of Bacteremia. *Scientific Reports*, 7, 46151.
- Grohmann, E. (2010). Autonomous plasmid-like replication of Bacillus ICEBs1: A general feature of integrative conjugative elements?: MicroCommentary. *Molecular Microbiology*, 75 (2) 261-263.
- Guilhelmelli, F., Vilela, N., Albuquerque, P., Derengowski, L. S., Silva-Pereira, I., & Kyaw, C. M. (2013). Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. *frontiers in Microbiology*, 4, Article 353.
- Hale, J. D., & Hancock, R. E. (2007). Alternative mechanisms of action of cationic antimicrobial peptides on bacteria. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 5(6), 951–959.
- Hallet, B., & Sherratt, D. J. (1997). Transposition and site-specific recombination: Adapting DNA cut-and-paste mechanisms to a variety of genetic rearrangements. *FEMS Microbiology Reviews*, 21 (2) 157-178.
- Hamblin, M. R., & Hasan, T. (2004). Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochemical & Photobiological Sciences*, 3(5), 436.

- Han, C., Spring, S., Lapidus, A., Del Rio, T. G., Tice, H., Copeland, A., Detter, J. C. (2009). Complete genome sequence of *Pedobacter heparinus* type strain (HIM 762-3). *Standards in Genomic Sciences*, 1(1), 54–62.
- Han, J., Jyoti, A., Song, H.-Y., & Jang, W. S. (2016). Antifungal Activity and Action Mechanism of Histatin 5-Halocidin Hybrid Peptides against *Candida ssp*. *PloS One*, 11(2), e0150196.
- Hanakova, A., Bogdanova, K., Tomankova, K., Pizova, K., Malohlava, J., Binder, S., Kolarova, H. (2014). The application of antimicrobial photodynamic therapy on *S. aureus* and *E. coli* using porphyrin photosensitizers bound to cyclodextrin. *Microbiological Research*, 169(2–3), 163–170.
- Hancock, R. E. W. (1997). Peptide antibiotics. *The Lancet*, 349(9049), 418–422.
- Hao, H., Cheng, G., Iqbal, Z., Ai, X., Hussain, H. I., Huang, L., Yuan, Z. (2014). Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals. *Frontiers in Microbiology*, 5, 288.
- Harris, F., Dennison, S., & Phoenix, D. (2009). Anionic Antimicrobial Peptides from Eukaryotic Organisms. *Current Protein & Peptide Science*, 10(6), 585–606.
- Hathaway, H., Ajuebor, J., Stephens, L., Coffey, A., Potter, U., Sutton, J. M., & Jenkins, A. T. A. (2017). Thermally triggered release of the bacteriophage endolysin CHAPK and the bacteriocin lysostaphin for the control of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Controlled Release*, 245, 108–115.
- Héchar, Y., & Sahl, H.-G. (2002). Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from Gram-positive bacteria. *Biochimie*, 84(5–6), 545–557.
- Heidrich, C., Ursinus, A., Berger, J., Schwarz, H., & Höltje, J.-V. (2002). Effects of multiple deletions of murein hydrolases on viability, septum cleavage, and sensitivity to large toxic molecules in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 184(22), 6093–6099.
- Hernandez, A. F., Plucain, J., Gori, F., Pena-Miller, R., Reding, C., Jansen, G., Beardmore, R. (2015). Using a Sequential Regimen to Eliminate Bacteria at Sublethal Antibiotic Dosages. *PLoS Biology*, 13(4), e1002104.
- Hirota-Takahata, Y., Kozuma, S., Kuraya, N., Fukuda, D., Nakajima, M., & Ando, O. (2014). Pedopeptins, novel inhibitors of LPS: Taxonomy of producing organism, fermentation, isolation, physicochemical properties and structural elucidation. *The Journal of Antibiotics*, 67(3): 243–251.

- Hirsch, J. G. (1956). Studies of the bactericidal action of phagocytin. *The Journal of Experimental Medicine*, 103(5), 613–621.
- Holden, V. I., Breen, P., Houle, S., Dozois, C. M., & Bachman, M. A. (2016). *Klebsiella pneumoniae* siderophores induce inflammation, bacterial dissemination, and HIF-1 α stabilization during pneumonia. *mBio*, 7(5), e01397-16.
- Huang, H. W. (2006). Molecular mechanism of antimicrobial peptides: The origin of cooperativity. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1758 (9) 1292-1302.
- Huang, L., Dai, T., & Hamblin, M. R. (2010). Antimicrobial photodynamic inactivation and photodynamic therapy for infections. *Methods in Molecular Biology*, 635, 155–173.
- Hughes, D., & Andersson, D. I. (2017). Environmental and genetic modulation of the phenotypic expression of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(3), 374–391.
- Humann, J., & Lenz, L. L. (2009). Bacterial peptidoglycan-degrading enzymes and their impact on host muropeptide detection. *Journal of Innate Immunity*, 1 (2) 88-97.
- Huse, H. K., Kwon, T., Zlosnik, J. E. A., Speert, D. P., Marcotte, E. M., & Whiteley, M. (2010). Parallel evolution in *Pseudomonas aeruginosa* over 39,000 generations in vivo. *mBio*, 1(4), e00199-10.
- Jacoby, G. A. (2005). Mechanisms of resistance to quinolones. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 15(41), 120–126.
- James, R., Penfold, C. N., Moore, G. R., & Kleanthous, C. (2002). Killing of *E. coli* cells by E group nuclease colicins. *Biochimie*, 84(5–6), 381–389.
- Jechalke, S., Schreiter, S., Wolters, B., Dealtry, S., Heuer, H., & Smalla, K. (2013). Widespread dissemination of class 1 integron components in soils and related ecosystems as revealed by cultivation-independent analysis. *Frontiers in Microbiology*, 4, 420.
- Jenssen, H., Hamill, P., & Hancock, R. E. W. (2006). Peptide antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 491–511.
- Jiang, S. C., & Paul, J. H. (1998). Gene transfer by transduction in the marine environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(8), 2780–2787.
- Johnson, C. M., & Grossman, A. D. (2015). Integrative and Conjugative Elements (ICEs): What They Do and How They Work. *Annual Review of Genetics*, 49(1), 577–601.

- Jones, R. N., & Barry, A. L. (1983). Cefoperazone: a review of its antimicrobial spectrum, beta-lactamase stability, enzyme inhibition, and other in vitro characteristics. *Reviews of Infectious Diseases*, 5(1), 108–126.
- Jori, G. (2006). Photodynamic therapy of microbial infections: state of the art and perspectives. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology: Official Organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 25(1–2), 505–519.
- Józefiak, A., & Engberg, R. (2017). Insect proteins as a potential source of antimicrobial peptides in livestock production. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 26(2), 87–99.
- Jung, Y.-T., Lee, S.-Y., Choi, W.-C., Oh, T.-K., & Yoon, J.-H. (2012). *Pedobacter boryungensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(1), 13–17.
- Kalinienė, L., Šimoliūnas, E., Truncaitė, L., Zajančkauskaitė, A., Nainys, J., Kaupinis, A., Meškys, R. (2017). Molecular analysis of Arthrobacter myovirus vB_ArtM-ArV1: we blame it on the tail. *Journal of Virology*, 91(8), e00023–17.
- Kanazawa, K., Sato, Y., Ohki, K., Okimura, K., Uchida, Y., Shindo, M., & Sakura, N. (2009) Contribution of each amino acid residue in polymyxin B₃ to antimicrobial and lipopolysaccharide binding activity. *Chem. Pharm. Bull.*, 57(3), 240–244.
- Kantele, A., Lääveri, T., Mero, S., Vilkinan, K., Pakkanen, S. H., Ollgren, J., Kirveskari, J. (2015). Antimicrobials increase travelers' risk of colonization by extended-spectrum betalactamase-producing enterobacteriaceae. *Clinical Infectious Diseases*, 60(6), 837–846.
- Katchanov, J., Kreuels, B., Maurer, F. P., Wöstmann, K., Jochum, J., König, C., Seoudy, K., Rohde, K., Lohse, Wichmann, D., Baehr, M., Rothe, C., & Kluge, S. (2017). Risk factors for excessively prolonged meropenem use in the intensive care setting: a case-control study. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 131.
- Kharkwal, G. B., Sharma, S. K., Huang, Y.Y., & Dai, T. (2012). Photodynamic Therapy for Infections: Clinical Applications. *Lasers Surg Med.*, 43(7), 755–767.
- Khurshid, Z., Najeeb, S., Mali, M., Moin, S. F., Raza, S. Q., Zohaib, S., & Zafar, M. S. (2017). Histatin peptides: Pharmacological functions and their applications in dentistry. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(1), 25–31.
- Kidd, T. J., Mills, G., Sá-Pessoa, J., Dumigan, A., Frank, C. G., Insua, J. L., &

- Bengoechea, J. A. (2017). A *Klebsiella pneumoniae* antibiotic resistance mechanism that subdues host defences and promotes virulence. *EMBO Molecular Medicine*, 9(4), 430–447.
- Kim, M., Jung, H. Y., & Park, H. J. (2015). Topical PDT in the treatment of benign skin diseases: Principles and new applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 23259–23278.
- Kim, J. J., Franczyk, M., Gottlieb, L. J., & Song, D. H. (2017). Cost-effective Alternative for Negative-pressure Wound Therapy. *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open*, 5(2), e1211.
- Kirkup, B. C. (2006). Bacteriocins as Oral and Gastrointestinal Antibiotics: Theoretical Considerations, Applied Research, and Practical Applications. *Current Medicinal Chemistry*, 13(27), 3335–3350.
- Knoll, B. M., & Mylonakis, E. (2014). Antibacterial bioagents based on principles of bacteriophage biology: an overview. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 58 (4) 528-534.
- Kozuma, S., Hirota-Takahata, Y., Fukuda, D., Kuraya, N., Nakajima, M., & Ando, O. (2014). Screening and biological activities of pedopeptins, novel inhibitors of LPS produced by soil bacteria. *The Journal of Antibiotics*, 67(3), 237–42.
- Kraszewska, J., Beckett, M. C., James, T. C., & Bond, U. (2016). Comparative Analysis of the Antimicrobial Activities of Plant Defensin-Like and Ultrashort Peptides against Food-Spoiling Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(14), 4288–98.
- Kropinski, A. M. (2006). Phage therapy - Everything old is new again. In *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* 17, 297–306.
- Kuenzli, E. (2016). Antibiotic resistance and international travel: Causes and consequences. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 14 (6) 595-598.
- Kumar, V., Sun, P., Vamathevan, J., Li, Y., Ingraham, K., Palmer, L., Brown, J. R. (2011). Comparative genomics of *Klebsiella pneumoniae* strains with different antibiotic resistance profiles. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(9), 4267–4276.
- Lacerda, A. F., Pelegrini, P. B., de Oliveira, D. M., Vasconcelos, É. A. R., & Grossi-de-Sá, M. F. (2016). Anti-parasitic Peptides from Arthropods and their Application in Drug Therapy. *Frontiers in Microbiology*, 7(5), 91.
- Lam, M., Jou, P. C., Lattif, A. A., Lee, Y., Malbasa, C. L., Mukherjee, P. K., Baron, E. D. (2011). Photodynamic therapy with Pc 4 induces apoptosis of *Candida albicans*.

Photochemistry and Photobiology, 87(4), 904–909.

- Landers, T. F., Cohen, B., Wittum, T. E., & Larson, E. L. (2012). A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. *Public Health Reports*, 127(1), 4–22.
- Laxminarayan, R., & Klugman, K. P. (2011). Communicating trends in resistance using a drug resistance index. *BMJ Open*, 1(2), e000135.
- Lee, C.-R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., & Lee, S. H. (2017). Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 55.
- Lee, C. A., Babic, A., & Grossman, A. D. (2010). Autonomous plasmid-like replication of a conjugative transposon. *Molecular Microbiology*, 75(2), 268–279.
- Lee, C. R., Cho, I. H., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2013). Strategies to minimize antibiotic resistance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 10 (9) 4274-4305.
- Lee, E., Shin, A., & Kim, Y. (2015). Anti-inflammatory activities of cecropin A and its mechanism of action. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 88(1), 31–44.
- Lee, T.-H., N. Hall, K., & Aguilar, M. I. (2016). Antimicrobial Peptide Structure and Mechanism of Action: A Focus on the Role of Membrane Structure. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 16(1), 25–39.
- Levy, O. (1996). Antibiotic proteins of polymorphonuclear leukocytes. *European Journal of Haematology*, 56(5), 263–77.
- Livermore, D. M. (1987). Mechanisms of Resistance to Cephalosporin Antibiotics. *Drugs*, 34(2), 64–88.
- Llor, C., & Bjerrum, L. (2014). Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, 5(6), 229–241.
- Loot, C., Bikard, D., Rachlin, A., & Mazel, D. (2010). Cellular pathways controlling integron cassette site folding. *The EMBO Journal*, 29(15), 2623–2634.
- Ly-Chatain, M. H. (2014). The factors affecting effectiveness of treatment in phages therapy. *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media SA, 5, 51.
- Lynch, S. R., & Puglisi, J. D. (2001). Structural origins of aminoglycoside specificity for prokaryotic ribosomes. *Journal of Molecular Biology*, 306(5), 1037–1058.

- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281.
- Maisch, T. (2009). A New Strategy to Destroy Antibiotic Resistant Microorganisms: Antimicrobial Photodynamic Treatment. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 9(8), 974–983.
- Maisch, T., Bosl, C., Szeimies, R.-M., Lehn, N., & Abels, C. (2005). Photodynamic Effects of Novel XF Porphyrin Derivatives on Prokaryotic and Eukaryotic Cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(4), 1542–1552.
- Maisch, T., Szeimies, R.-M., Jori, G., & Abels, C. (2004). Antibacterial photodynamic therapy in dermatology. *Photochemical & Photobiological Sciences : Official Journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 3(10), 907–917.
- Malanovic, N., & Lohner, K. (2016). Antimicrobial peptides targeting Gram-positive bacteria. *Pharmaceuticals*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 9 (3) 59.
- Malanovic, N., Lohner, K., & Hilpert, K. (2016). Gram-positive bacterial cell envelopes: The impact on the activity of antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1858(5), 936–946.
- Maragakis, L. L., & Perl, T. M. (2008). Antimicrobial Resistance: *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Treatment Options. *Clinical Infectious Diseases*, 46(8), 1254–1263.
- Margesin, R., Spröer, C., Schumann, P., & Schinner, F. (2003). *Pedobacter cryoconitis* sp. nov., a facultative psychrophile from alpine glacier cryoconite. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 1291–1296.
- Mattila, S., Ruotsalainen, P., & Jalasvuori, M. (2015). On-demand isolation of bacteriophages against drug-resistant bacteria for personalized phage therapy. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1271.
- McCarthy, A. J., Loeffler, A., Witney, A. A., Gould, K. A., Lloyd, D. H., & Lindsay, J. A. (2014). Extensive Horizontal Gene Transfer during *Staphylococcus aureus* Co-colonization In Vivo. *Genome Biology and Evolution*, 6(10), 2697–2708.
- McCaughey, L. C., Ritchie, N. D., Douce, G. R., Evans, T. J., & Walker, D. (2016).

- Efficacy of species-specific protein antibiotics in a murine model of acute *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *Scientific Reports*, 6, 30201.
- McCusker, K. P., & Fujimori, D. G. (2012). The chemistry of peptidyltransferase center-targeted antibiotics: Enzymatic resistance and approaches to countering resistance. *ACS Chemical Biology*, 7 (1) 64-72.
- Mirzaei, M. K., & Nilsson, A. S. (2015). Isolation of phages for phage therapy: A comparison of spot tests and efficiency of plating analyses for determination of host range and efficacy. *PLoS ONE*, 10 (3), e0118557.
- Moffatt, J. H., Harper, M., Harrison, P., Hale, J. D. F., Vinogradov, E., Seemann, T., Boyce, J. D. (2010). Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(12), 4971–4977.
- Morton, J. T., Freed, S. D., Lee, S. W., & Friedberg, I. (2015). A large scale prediction of bacteriocin gene blocks suggests a wide functional spectrum for bacteriocins. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(5), 2737–2747.
- Moura, J. de S., Balbontín, R., Durão, P., & Gordo, I. (2017). Multidrug-resistant bacteria compensate for the epistasis between resistances. *PLOS Biology*, 15(4), e2001741.
- Muniesa, M., Colomer-Lluch, M., & Jofre, J. (2013). Could bacteriophages transfer antibiotic resistance genes from environmental bacteria to human-body associated bacterial populations? *Mobile Genetic Elements*, 3(4), e25847.
- Nakajima, Y., Ishibashi, J., Yukuhiro, F., Asaoka, A., Taylor, D., & Yamakawa, M. (2003). Antibacterial activity and mechanism of action of tick defensin against Gram-positive bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1624(1–3), 125–130.
- Nakatsuji, T., & Gallo, R. L. (2012). Antimicrobial peptides: old molecules with new ideas. *The Journal of Investigative Dermatology*, 132(3), 887–95.
- Narayana, J. L., & Chen, J.-Y. (2015). Antimicrobial peptides: Possible anti-infective agents. *Peptides*, 72, 88-94
- Nash, J. A., Ballard, T. N. S., Weaver, T. E., & Akinbi, H. T. (2006). The peptidoglycan-degrading property of lysozyme is not required for bactericidal activity *in vivo*. *Journal of Immunology*, 177(1), 519–526.
- Ndieyira, J. W., Bailey, J., Patil, S. B., Vögtli, M., Cooper, M. A., Abell, C., Aeppli, G. (2017). Surface mediated cooperative interactions of drugs enhance mechanical forces

- for antibiotic action. *Scientific Reports*, 7, 41206.
- Neu, H. C. (1987). Penicillin-binding proteins and beta-lactamases: their effects on the use of cephalosporins and other new beta-lactams. *Current Clinical Topics in Infectious Diseases*, 8, 37–61.
- Ng, M., Epstein, S. B., Callahan, M. T., Piotrowski, B. O., Simon, G. L., Roberts, A. D., Keiser, J. F., & Kaplan, J. B. (2014). Induction of MRSA biofilm by low-dose β -lactam antibiotics: Specificity, prevalence and dose-response effects. *Dose-Response*, 12(1), 152–161.
- Nguyen, L. T., Haney, E. F., & Vogel, H. J. (2011). The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action, 29 (9) 464-472.
- Nissen-Meyer, J., Oppegård, C., Rogne, P., Haugen, H. S., & Kristiansen, P. E. (2010). Structure and mode-of-action of the two-peptide (class-IIb) bacteriocins. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2(1), 52–60.
- Niwa, T., Shinoda, Y., Suzuki, A., Ohmori, T., Yasuda, M., Ohta, H., Itoh, Y. (2012). Outcome measurement of extensive implementation of antimicrobial stewardship in patients receiving intravenous antibiotics in a Japanese university hospital. *International Journal of Clinical Practice*, 66(10), 999–1008.
- Nordström, R., & Malmsten, M. (2017). Delivery systems for antimicrobial peptides. *Advances in Colloid and Interface Science*, 242, 17–34.
- Norris, A. E., & Nicas, T. I. (2003). Mechanism of action of oritavancin and related glycopeptide antibiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(5), 511–532.
- Nyman, E. S., & Hynninen, P. H. (2004). Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology*, 73 (1-2) 1-28.
- Ochman, H., Lawrence, J. G., & Groisman, E. A. (2000). Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature*, 405(6784), 299–304.
- Om, C., Daily, F., Vlieghe, E., McLaughlin, J. C., & McLaws, M.-L. (2016). “If it’s a broad spectrum, it can shoot better”: inappropriate antibiotic prescribing in Cambodia. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 5(1), 58.
- Opperman, T. J., & Nguyen, S. T. (2015). Recent advances toward a molecular mechanism of efflux pump inhibition. *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media SA, 6, 421.
- Osipovitch, D. C., & Griswold, K. E. (2015). Fusion with a cell wall binding domain renders autolysin LytM a potent anti-Staphylococcus aureus agent. *FEMS*

- Microbiology Letters*, 362(2), 1–7.
- Ott, B.M., Beka, L., Graf, J., & Rio, R.V.M. (2015). Draft genome sequence of *Pedobacter* sp. strain Hv1, an isolate from medicinal leech mucosal castings. *Genome Announc* 3(6): e01469-15.
- Pandey, P. K., Kass, P. H., Soupir, M. L., Biswas, S., & Singh, V. P. (2014). Contamination of water resources by pathogenic bacteria. *AMB Express*, 4 (1), 51.
- Pane, K., Durante, L., Crescenzi, O., Cafaro, V., Pizzo, E., Varcamonti, M., Notomista, E. (2017). Antimicrobial Potency of Cationic Antimicrobial Peptides can be Predicted from their Amino Acid Composition: Application to the Detection of “Cryptic” Antimicrobial Peptides. *Journal of Theoretical Biology*, 21(419), 254–265.
- Papo, N., & Shai, Y. (2005). Host defense peptides as new weapons in cancer treatment. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62 (7-8) 784-790.
- Parisien, A., Allain, B., Zhang, J., Mandeville, R., & Lan, C. Q. (2008). Novel alternatives to antibiotics: Bacteriophages, bacterial cell wall hydrolases, and antimicrobial peptides. *Journal of Applied Microbiology*, 104(1), 1–13.
- Parracho, H. M., Burrowes, B. H., & Enright, M. C. (2012). The role of regulated clinical trials in the development of bacteriophage therapeutics. *Journal of Molecular and Genetic Medicine*, 6(1), 279–286.
- Pastagia, M., Schuch, R., Fischetti, V. A., & Huang, D. B. (2013). Lysins: the arrival of pathogen-directed anti-infectives. *Journal of Medical Microbiology*, 62(10), 1506–1516.
- Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: A clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657–686.
- Pedulla, M. L., Ford, M. E., Houtz, J. M., Karthikeyan, T., Wadsworth, C., Lewis, J. A., Hatfull, G. F. (2003). Origins of highly mosaic mycobacteriophage genomes. *Cell*, 113(2), 171–182.
- Pereira, S., Pereira, C., Santos, L., Klumpp, J., & Almeida, A. (2016). Potential of phage cocktails in the inactivation of *Enterobacter cloacae*-An in vitro study in a buffer solution and in urine samples. *Virus Research*, 211(4), 199–208.
- Petersen, E., & Mohsin, J. (2016). Should travelers be screened for multi-drug resistant (MDR) bacteria after visiting high risk areas such as India? *Travel Medicine and Infectious Disease*, 14 (6) 591-594.
- Pieta, P., Mirza, J., & Lipkowski, J. (2012). Direct visualization of the alamethicin pore

- formed in a planar phospholipid matrix. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(52), 21223–21227.
- Poole, K. (2005). Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(2), 479–487.
- Pulcini, C., & Gyssens, I. C. (2013). How to educate prescribers in antimicrobial stewardship practices. *Virulence*, 4(2), 192–202.
- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*, 13 (6) 151–171.
- Rapsch, K., Bier, F. F., & Von Nickisch-Rosenegk, M. (2014). Rational design of artificial β -strand-Forming Antimicrobial Peptides with Biocompatible properties. *Molecular Pharmaceutics*, 11(10), 3492–3502.
- Recht, M. I., Douthwaite, S., & Puglisi, J. D. (1999). Basis for prokaryotic specificity of action of aminoglycoside antibiotics. *The EMBO Journal*, 18(11), 3133–3138.
- Richardson, L. (2015). Alternating Antibiotics Render Resistant Bacteria Beatable. *PLoS Biology*, 13(4), e1002105.
- Rios, A. C., Moutinho, C. G., Pinto, F. C., Del Fiol, F. S., Jozala, A., Chaud, M. V., & Balcão, V. M. (2016). Alternatives to overcoming bacterial resistances: state-of-the-art. *Microbiological Research*, 191, 51–80.
- Roach, D. R., & Donovan, D. M. (2015). Antimicrobial bacteriophage-derived proteins and therapeutic applications. *Bacteriophage*, 5(3), e1062590.
- Rollins-Smith, L. A. (2009). The role of amphibian antimicrobial peptides in protection of amphibians from pathogens linked to global amphibian declines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1788(8): 1593–1599.
- Rotem, S., & Mor, A. (2009). Antimicrobial peptide mimics for improved therapeutic properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1788(8), 1582–1592.
- Rotem, S., & Mor, A. (2009). Antimicrobial peptide mimics for improved therapeutic properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1788(8), 1582–1592.
- Ruzin, A., Singh, G., Severin, A., Yang, Y., Dushin, R. G., Sutherland, A. G., Bradford, P. A. (2004). Mechanism of Action of the Mannopectimycins, a Novel Class of Glycopeptide Antibiotics Active against Vancomycin-Resistant Gram-Positive Bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(3), 728–738.
- Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in

- ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International*. Hindawi Publishing Corporation, 2016, 2475067.
- Santos, T., Cruz, A., Caetano, T., Covas, C., & Mendo, S. (2015). Draft Genome Sequence of *Pedobacter* sp. Strain NL19, a Producer of Potent Antibacterial Compounds. *Genome Announcements*, 3(2), e00184-15.
- Sato, H., & Feix, J. B. (2006). Peptide-membrane interactions and mechanisms of membrane destruction by amphipathic α -helical antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1758(9), 1245–1256.
- Schweizer, F. (2009) Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity. *European Journal of Pharmacology*, 625(1-3): 190-194.
- Seiler, C., & Berendonk, T. U. (2012). Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. *Frontiers in Microbiology*, 3, 399.
- Sekowska, A., Janicka, G., Kłyszewko, C., Wojda, M., Wróblewski, M., & Szymankiewicz, M. (2002). Resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains producing and not producing ESBL (extended-spectrum beta-lactamase) type enzymes to selected non-beta-lactam antibiotics. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 8(3), 100–104.
- Selsted, M. E., Szklarek, D., Ganz, T., & Lehrer, R. I. (1985). Activity of rabbit leukocyte peptides against *Candida albicans*. *Infection and Immunity*, 49(1), 202–206.
- Sengupta, D., Leontiadou, H., Mark, A. E., & Marrink, S. J. (2008). Toroidal pores formed by antimicrobial peptides show significant disorder. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1778(10), 2308–2317.
- Seo, M.-D., Won, H.-S., Kim, J.-H., Mishig-Ochir, T., & Lee, B.-J. (2012). Antimicrobial Peptides for Therapeutic Applications: A Review. *Molecules*, 17(12), 12276–12286.
- Sabath, L. D. (1982). Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics in strains of *Staphylococcus aureus*. *Annals of Internal Medicine*, 97(3), 339–344.
- Sharma, A. K., Kumar, S., K., H., Dhakan, D. B., & Sharma, V. K. (2016). Prediction of peptidoglycan hydrolases- a new class of antibacterial proteins. *BMC Genomics*, 17(1), 411.
- Sharma, K. K., Maurya, I. K., Khan, S. I., Jacob, M. R., Kumar, V., Tikoo, K., & Jain, R. (2017). Discovery of a Membrane-Active, Ring-Modified Histidine Containing Ultrashort Amphiphilic Peptide That Exhibits Potent Inhibition of *Cryptococcus*

- neoformans. Medical Chemistry*, 60(15), 6607–6621.
- Sharma, S. K., Dai, T., Kharkwal, G. B., Huang, Y.-Y., Huang, L., De Arce, V. J. B., Hamblin, M. R. (2011). Drug discovery of antimicrobial photosensitizers using animal models. *Current Pharmaceutical Design*, 17(13), 1303–1319.
- Shatzkes, K., Singleton, E., Tang, C., Zuenä, M., Shukla, S., Gupta, S., Kadouri, D. E. (2016). Predatory Bacteria Attenuate *Klebsiella pneumoniae* Burden in Rat Lungs. *mBio*, 7(6), e01847-16.
- Shintani, M., Takahashi, Y., Yamane, H., & Nojiri, H. (2010). The behavior and significance of degradative plasmids belonging to Inc groups in *Pseudomonas* within natural environments and microcosms. *Microbes and Environments / JSME*, 25(4), 253–265.
- Shivaji, S., Chaturvedi, P., Reddy, G. S. N., & Suresh, K. (2005). *Pedobacter himalayensis* sp. nov., from the Hamta glacier located in the Himalayan mountain ranges of India. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 1083-1088.
- Skalickova, S., Heger, Z., Krejcova, L., Pekarik, V., Bastl, K., Janda, J., Kizek, R. (2015). Perspective of Use of Antiviral Peptides against Influenza Virus. *Viruses*, 7(10), 5428–42.
- Smalla, K., Top, E. M., & Jechalke, S. (2015). Plasmid Detection, Characterization, and Ecology. *Microbiology Spectrum*, 3(1), 0038–2014.
- Smith, K., Zeng, X., & Lin, J. (2014). Discovery of bile salt hydrolase inhibitors using an efficient high-throughput screening system. *PLoS ONE*, 9(1), e85344.
- Sørensen, S. J., Bailey, M., Hansen, L. H., Kroer, N., & Wuertz, S. (2005). Studying plasmid horizontal transfer in situ: a critical review. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 700–710.
- Sperandio, F. F., Huang, Y.-Y., & Hamblin, M. R. (2013). Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-negative bacteria. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*, 8(2), 1–23.
- Stapleton, P. D., & Taylor, P. W. (2002). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. *Science Progress*. Europe PMC Funders, 85 (1) 57-72.
- Starikova, I., Harms, K., Haugen, P., Lunde, T. T. M., Primicerio, R., Samuelsen, Ø., Johnsen, P. J. (2012). A Trade-off between the Fitness Cost of Functional Integrases and Long-term Stability of Integrons. *PLoS Pathogens*, 8(11), e1003043.
- Stewart, F. M., & Levin, B. R. (1984). The population biology of bacterial viruses: Why be temperate. *Theoretical Population Biology*, 26(1), 93–117.

- Steyn, P. L., Segers, M. V., & , P. Sandra, K. Kersters, J. . J. (1998). Classification of heparinolytic bacteria into a new genus, *Pedobacter*, comprising four species : *Pedobacter heparinus* comb. nov., *Pedobacter piscium* comb. nov., *Pedobacter africanus* sp. nov. and *Pedobacter saltans* sp. nov. Proposal of the family Sphingoba, 48, 165-177.
- Sun, J., Deng, Z., & Yan, A. (2014). Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 453(2), 254–267.
- Suzuki, H., Lefébure, T., Bitar, P. P., & Stanhope, M. J. (2012). Comparative genomic analysis of the genus *Staphylococcus* including *Staphylococcus aureus* and its newly described sister species *Staphylococcus simiae*. *BMC Genomics*, 13, 38.
- Szuplewska, M., Czarnecki, J., & Bartosik, D. (2014). Autonomous and non-autonomous Tn3-family transposons and their role in the evolution of mobile genetic elements. *Mobile Genetic Elements*, 4(6), 1–4.
- Szweda, P., Schielmann, M., Kotlowski, R., Gorczyca, G., Zalewska, M., & Milewski, S. (2012). Peptidoglycan hydrolases-potential weapons against *Staphylococcus aureus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Springer, 96 (5) 1157-1174.
- Tello, A., Austin, B., & Telfer, T. C. (2012). Selective pressure of antibiotic pollution on bacteria of importance to public health. *Environmental Health Perspectives*, 120(8), 1100–1106.
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *American Journal of Medicine*, 119(6), S3–S10.
- Thomas, C. M., & Nielsen, K. M. (2005). Mechanisms of, and Barriers to, Horizontal Gene Transfer between Bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 711–721.
- Troxler, R. F., Offner, G. D., Xu, T., Vanderspek, J. C., & Oppenheim, F. G. (1990). Structural Relationship Between Human Salivary Histatins. *Journal of Dental Research*, 69(1), 2–6.
- Uehara, T., & Bernhardt, T. G. (2011). More than just lysins: peptidoglycan hydrolases tailor the cell wall. *Current Opinion in Microbiology*, 14(6), 698–703.
- Van Heijenoort, J. (2011). Peptidoglycan Hydrolases of *Escherichia coli*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75(4), 636–663.
- Vaz-Moreira, I., Nunes, O. C., & Manaia, C. M. (2014). Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: Searching the links with the human microbiome. *FEMS*

- Microbiology Reviews*, 38 (4) 761-778.
- Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 40(4), 277–283.
- Viale, P., Giannella, M., Bartoletti, M., Tedeschi, S., & Lewis, R. (2015). Considerations About Antimicrobial Stewardship in Settings with Epidemic Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing or Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. *Infectious Diseases and Therapy Springer*, 4 (1) 65-83.
- Villa, L., García-Fernández, A., Fortini, D., & Carattoli, A. (2010). Replicon sequence typing of IncF plasmids carrying virulence and resistance determinants. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(12), 2518–2529.
- Vollmer, W., Joris, B., Charlier, P., & Foster, S. (2008). Bacterial peptidoglycan (murein) hydrolases. *FEMS Microbiology Reviews*, 32 (2) 259-286.
- Von, W. C. J. H., Penders, J., Van N., J. M., Mills, N. D., Majumder, S., Van A. L. B., & Wolffs, P. F. G. (2016). Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, 7(19), 173.
- Waghu, F. H., Barai, R. S., Gurung, P., & Idicula-Thomas, S. (2016). CAMP_{R3} : a database on sequences, structures and signatures of antimicrobial peptides. *Nucleic Acids Research*, 44(1), D1094–D1097.
- Wainwright, M. (1998). Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 42 (1) 13-28.
- Wainwright, M., & Crossley, K. B. (2004). Photosensitising agents-circumventing resistance and breaking down biofilms: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 53(2), 119–126.
- Wang, C. K., King, G. J., Conibear, A. C., Ramos, M. C., Chaousis, S., Henriques, S. T., & Craik, D. J. (2016). Mirror Images of Antimicrobial Peptides Provide Reflections on Their Functions and Amyloidogenic Properties. *Journal of the American Chemical Society*, 138(17), 5706–5713.
- Wang, G. (2013). Database-guided discovery of potent peptides to combat HIV-1 or superbugs. *Pharmaceuticals*, 6(6), 728–758.
- Wang, G., Hanke, M. L., Mishra, B., Lushnikova, T., Heim, C. E., Chittecham Thomas, V., Kielian, T. (2014). Transformation of Human Cathelicidin LL-37 into Selective, Stable, and Potent Antimicrobial Compounds. *ACS Chemical Biology*, 9(9), 1997–2002.

- Wang, X., Weber, J. K., Liu, L., Dong, M., Zhou, R., & Li, J. (2015) A novel form of β -strand assembly observed in $A\beta_{33-42}$ adsorbed onto graphene. *Nanoscale*, 7(37), 15341-15348.
- Wang, S., Zeng, X., Yang, Q., & Qiao, S. (2016) Antimicrobial Peptides as Potential Alternatives to Antibiotics in Food Animal Industry. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(5), 603.
- Wellington, E. M., Boxall, A. B., Cross, P., Feil, E. J., Gaze, W. H., Hawkey, P. M., Williams, A. P. (2013). The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *The Lancet Infectious Diseases*, 13 (2) 155-165.
- Williamson, R., Collatz, E., & Gutmann, L. (1986). Mechanisms of action of beta-lactam antibiotics and mechanisms of non-enzymatic resistance. *Presse Medicale*, 15(46), 2282–2289.
- Wittebole, X., De Roock, S., & Opal, S. M. (2013). A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence*, 5(1), 226–235.
- Wittekind, M., & Schuch, R. (2016). Cell wall hydrolases and antibiotics: Exploiting synergy to create efficacious new antimicrobial treatments. *Current Opinion in Microbiology*, 33, 18-24.
- Wood, G. C., Hanes, S. D., Croce, M. A., Fabian, T. C., & Boucher, B. A. (2002). Comparison of ampicillin-sulbactam and imipenem-cilastatin for the treatment of *Acinetobacter* ventilator-associated pneumonia. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 34(11), 1425–1430.
- Woodhams, D., Vredenburg, V. T., Simon, M. A., Billheimer, D., Shakhtour, B., Shyr, Y., Harris, R. N. (2007). Symbiotic bacteria contribute to innate immune defenses of the threatened mountain yellow-legged frog, *Rana muscosa*. *Biological Conservation*, 138(3–4), 390–398.
- World Health Organization. (2016). *WHO / Antimicrobial resistance*. World Health Organization. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.11764>
- Xia, G., & Wolz, C. (2014). Phages of *Staphylococcus aureus* and their impact on host evolution. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 593–601.
- Yang, L., Harroun, T. A., Weiss, T. M., Ding, L., & Huang, H. W. (2001). Barrel-stave

- model or toroidal model? A case study on melittin pores. *Biophysical Journal*, 81, 1475–1485.
- Yang, S. C., Lin, C. H., Sung, C. T., & Fang, J. Y. (2014). Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals. *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media SA.
- Yin, Y., Yue, G., Gao., Q., Wang, Z., Peng, F., Fang, C., Yang, X., & Pan, L. (2012). Genome sequence of *Pedobacter arcticus* sp. nov., a Sea Ice Bacterium isolated from Tundra soil. *Journal of Bacteriology*, 194(23), 6688.
- Yoon, J.-H., Kang, S.-J., & Oh, T.-K. (2007). *Pedobacter terrae* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 2462–2466.
- Yoon, I., Li, J. Z., & Shim, Y. K. (2013). Advance in photosensitizers and light delivery for photodynamic therapy. *Clinical Endoscopy*, 46(1), 7–23.
- Yotsuji, A., Mitsuyama, J., Hori, R., Yasuda, T., Saikawa, I., Inoue, M., & Mitsuhashi, S. (1988). Mechanism of action of cephalosporins and resistance caused by decreased affinity for penicillin-binding proteins in *Bacteroides fragilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32(12), 1848–1853.
- Zanetti, M., Gennaro, R., & Romeo, D. (1995). Cathelicidins: a novel protein family with a common proregion and a variable C-terminal antimicrobial domain. *FEBS Press*, 374(1), 1–5.
- Zasloff, M. (1987). Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(15), 5449–53.
- Zasloff, M., Martint, B., & Chen, H.-C. (1988). Antimicrobial activity of synthetic magainin peptides and several analogues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(3), 910–913.
- Zasloff, M. (2002) Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 415, 389–395.
- Ziebuhr, W., Ohlsen, K., Karch, H., Korhonen, T., & Hacker, J. (1999). Evolution of bacterial pathogenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 56(9–10), 719–728.